

UNIVERSIDAD DE GRANADA



FACULTAD DE CIENCIAS

ECOFISIOLOGIA Y BIOTECNOLOGIA DE MICORRIZAS EN  
LEGUMINOSAS (SOJA Y ALFALFA)

SONIA BEATRIZ GONZALEZ

TESIS DOCTORAL 1988

FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE GRANADA

Facultad de Ciencias

Fecha 22 de Julio 1988

SALDAHUM                     

ECOFISIOLOGIA Y BIOTECNOLOGIA DE MICORRIZAS  
EN LEGUMINOSAS (SOJA Y ALFALFA)

Sonia Beatriz González  
Tesis Doctoral

Universidad de Granada

1988

ECOFISIOLOGIA Y BIOTECNOLOGIA DE MICORRIZAS  
EN LEGUMINOSAS (SOJA Y ALFALFA)

Memoria que presenta la Licenciada en  
Microbiología Dña. Sonia Beatriz González  
para aspirar al Grado de Doctor.

Fdo. Sonia Beatriz González

Vº Bº  
El Director

Fdo. Dr. José Miguel Barea  
Profesor de Investigación del C.S.I.C.

Granada, Diciembre de 1988

La investigación presentada en esta MEMORIA Doctoral está incluida en el Convenio de Cooperación entre el C.S.I.C. (España) y CONICET (Argentina), en el que la Lic. Sonia B. González, investigadora del INTA está asimilada.

Proyecto de referencia: "Estudios Básicos- Aplicables para coordinar e integrar el funcionalismo de tres procesos interdependientes que tienen lugar en los ecosistemas suelo-planta: Fotosíntesis, Fijación de N<sub>2</sub> y Micorrización".

La concurrencia a España para la realización de Cursos del Doctorado y parte del trabajo experimental ha sido posible por el usufructo de una Beca del Programa INTA-BID otorgada por el INTA a la Lic. Sonia B. González.

La realización de los estudios de interacción "in vitro" entre Rhizobium y hongos micorrizógenos se han llevado a cabo en el Instituto de Investigaciones Bioquímicas (Buenos Aires) bajo la dirección de la Dra C. Azcón-Aguilar.

El Director y la Doctoranda quieren dedicar este trabajo a la memoria del que fue impulsor de esta colaboración científica, el Dr. Luis F. Leloir (q.e.p.d.), Director del Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Buenos Aires (R.Argentina).

A Rubén amigo y compañero inseparable...

A Fernanda y Alejandro por su cálida  
infancia...

A mi querida familia que siempre me  
acompaña, aún en la distancia...

A término de esta Tesis Doctoral deseo enfatizar mi reconocimiento a todas aquellas personas e Instituciones que han colaborado con este trabajo, tanto a nivel humano como científico. Especialmente, al Dr. Jose Miguel Barea, Profesor de Investigación y Director de esta tesis, quien con su gran entusiasmo y capacidad profesional me enseñó a llevar adelante esta labor guiándome durante todos estos años y brindándome su generosa amistad.

Al Director de la Estación Experimental del Zaidín, Dr. Julio Boza y al Jefe del Departamento de Microbiología, Dr. José Olivares, por sus cordiales recibimientos en esta Institución y por facilitar mi desenvolvimiento laboral disponiendo de todo el material e instalaciones necesarios durante mis permanencias en esta Estación Experimental.

A la Ing. Rosa Diéguez, Jefa del Instituto de Microbiología del INTA de Castelar, quien ha colaborado ampliamente, tanto a nivel científico cuanto a nivel personal para que se lleven a cabo las actividades en el INTA.

Al Ing. Juan C. Pacheco Basurco por su constante disposición y consejo, fundamentalmente, en las experiencias de campo, como así también a su grupo de investigación en

Rizobiología.

A la Dra. R. Azcón, por su inapreciable calidez humana que se aúna con su criterio científico, aportados con inagotable perseverancia.

A la Dra. Azcón-Aguilar que con excelente capacidad y cariño ha guiado una de las experiencias expuestas en la Tesis, además de alentarme permanentemente.

En general, a todos los que componen el Departamento de Microbiología del Zaidín que han contribuido para que mi estancia fuera fructífera y grata.

A la Dra. Nydia Nuñez, promotora del estudio de las micorrizas V-A en el INTA y del intercambio científico con el Dr. J. M. Barea.

A la Sra. Carmen Pérez, por la eficiencia con que siempre se ha desempeñado en el laboratorio, como así también por su alegre sonrisa que siempre acompaña hasta mis momentos más difíciles laborales y personales.

A la Ing. Lucía Jordá por su magnífica amistad y por contribuir con criterio científico y gran voluntad en estos últimos años.

Al Ing. Eduardo Noailles por su alegre compañerismo.

Al personal de Administración, Biblioteca, Campo, Mantenimiento y demás compañeros del I. de Microbiología del INTA.

Al personal de la Agencia de Extensión de 9 de Julio, quienes me contactaron con el Sr. Vergés que desinteresadamente cedió un predio



de su estancia "La Norumbega" para el desarrollo de una de las experiencias en campo.

A la Lic. Nora Abiati del Dpto. Estadística del INTA quien hizo y dirigió gran parte de los análisis estadísticos. En esta área también agradezco al Dr. Barahona y muy especialmente al Lic. Rafael Bervell por enseñarme y facilitarme Programas y por poner a punto el Ordenador para la escritura de esta Tesis.

A los directivos del INTA por permitirme disponer de esta Beca en el exterior y al personal de la Unidad Ejecutora INTA-BID por facilitarme los trámites para mi traslado a España y a la Srta. Lynne Broocks por sus gestiones en WINROCK International para que mi beca en el exterior se desarrollara en óptimas condiciones.

A la Dra. Carmen Lluch por su activo espíritu de permanente colaboración.

A la Srta. Francisca González por escribir pacientemente esta Tesis.

A muchas otras personas que me ayudaron en su especialidad: Sras. Teresa, Pura y Pilar Medina en análisis de plantas; D. J. Rodríguez Robledo, en fotografía; Geóloga Gladys Herrera, en análisis de suelos.

A todo el personal de la Estación Experimental del Zaidín y a Granada por ser tan bella...

**INDICE**

## INDICE

I	Objetivo e interés del trabajo.....	1
II	Introducción.	
1.	Las micorrizas y su importancia en el ecosistema.	
1.1.	Conceptos generales sobre las relaciones microbio planta.....	5
1.2.	Conceptos generales de micorrizas.....	7
1.3.	Formación de MAV.....	9
1.4.	Fisiología de las MAV: su papel en nutrición vegetal.....	14
1.5.	Ecofisiología de las MAV: Bases para manipular "la simbiosis".....	18
1.6.	Biotecnología en MAV: posibilidades de aplicación práctica.....	21
1.7.	Las MAV y su impacto en ecología vegetal.....	26
2.	Micorrizas en leguminosas.	
2.1.	La simbiosis <i>Rhizobium</i> -leguminosa y su importancia en el ecosistema.....	27
2.2.	Micorrizas y nódulos en leguminosa.....	29
2.3.	Interacciones <i>Rhizobium</i> -leguminosa-HMAV, a nivel del establecimiento de la MAV o formación de nódulos.....	30
2.4.	Efectos de los MAV sobre la FBN mediados por el aporte de P.....	32
2.5.	Efectos de las MAV sobre la FBN mediados por otros nutrientes distintos de P.....	34
2.6.	Efectos de los MAV sobre la FBN no mediados por el aporte de nutrientes.....	35
2.7.	Papel de las micorrizas en la transferencia de N en comunidades mixtas de plantas leguminosas y no-leguminosas.....	38
2.8.	Coste energético de la asociación <i>Rhizobium</i> - leguminosa-micorriza.....	39
2.9.	Efectos de los fertilizantes fosfatados sobre la doble simbiosis.....	40
2.10.	Significado ecológico de las MAV en Leguminosas.....	41
3.	Interacciones <i>Bradyrhizobium</i> -soja-hongos de la micorriza.	
3.1.	Consideraciones generales.....	46
3.2.	Características generales de la planta hospedante.....	47

3.3.	Relaciones de dependencia entre los componentes de la simbiosis tripartita.....	48
3.4.	Coste energético de la doble simbiosis y compensación fotosintética.....	53
3.5.	Interacciones entre endofitos.....	56
3.6.	Influencia del suelo.....	59
III Materiales y metodos.		
A. Parte general.		
1. Microorganismos		
1.1. Hongos micorizógenos arbúsculo-vesiculares (HMAV)		
1.1.1.	Especies fúngicas y su procedencia.....	61
1.1.2.	Aislamiento y cuantificación de esporas de HMAV.....	62
1.1.3.	Desinfección superficial de esporas y germinación.....	63
1.1.4.	Multiplicación de HMAV.....	64
1.1.5.	Tinción diferencial de las estructuras fúngicas.....	65
1.1.6.	Cuantificación de la colonización micorrícica.....	66
1.1.7.	Enumeración de propágulos micorrizógenos.....	67
1.2. Bacterias		
1.2.1.	Especies bacterianas y su procedencia..	67
1.2.2.	Medios de cultivo.....	
1.2.3.	Enumeración de Rhizobium (infectividad..	69
2. Plantas		
2.1.	Desinfección superficial del tegumento seminal.....	70
2.2.	Germinación de semillas.....	71
3.	Soluciones nutritivas.....	71
4.	Suelos.....	73
4.1	Preparación de suelos para ensayos de invernadero.....	74
B. Ensayos específicos.		
5. Ensayos con Glycine max (soja).		
5.1.	Evaluación de la micorrización natural en diferentes áreas productoras de soja de la R. Argentina.....	74
5.2.	Compatibilidad de diferentes combinaciones HMAV soja, en función del tipo de suelo....	76
5.3.	Dependencia micorrícica de la soja en los suelos estudiados.....	78
5.4.	Estudios de interacción entre diferentes cepas de B.japonicum y micorrizas nativas..	79
5.5.	Estudio de interacciones entre Bradyrhizobium japonicum, Glomus epigaeum	

y <i>Glycine max</i> .....	81
6. Ensayos con <i>Medicago sativa</i> (alfalfa)	
6.1. Estudios "in vitro" de las interacciones entre <i>Rhizobium meliloti</i> y esporas de hongos micorrícicos.....	84
6.2. Preparación de inoculantes de micorrizas para alfalfa.....	86
6.3. Ensayo experimental en condiciones de campo con aplicación de "pellets".....	88
6.4. Preparación de "pellets" aplicados en suelos ácidos.....	88
6.5. Aplicación experimental de "pellets" en dos localidades de Buenos Aires, R. Argentina.....	90
7. Obtención de inóculos de micorrizas.....	91
IV Resultados.	
A. Ensayos con soja	
1. Evaluación de la micorrización natural en diferentes áreas productoras de soja en la R. Argentina.....	94
2. Compatibilidad de distintas combinaciones hongo micorrizogeno-soja en función del tipo de suelo.....	97
2.1. Experiencias con dos suelos de España.....	97
2.2. Estudio de compatibilidad para el cv Hood 75 usando suelo proveniente de Castelar, provincia de Buenos Aires.....	98
3. Dependencia micorrícica de la soja en los suelos estudiados.	
3.1. Suelo Negro, Granada, España.....	114
3.2. Suelo de Castelar, Buenos Aires, Argentina	144
4. Estudios de interacción entre diferentes cepas de <i>Bradyrhizobium japonicum</i> nativas de un suelo de Castelar	
4.1. Ensayo en condiciones controladas.....	163
4.2. Ensayo en condiciones de campo.....	170
5. Estudio de las interacciones entre <i>Bradyrhizobium</i> , <i>Glomus</i> y <i>Glycine max</i> en suelo Negro de Granada.....	170
5.1. Peso seco de tallos y hojas.....	170
5.1.1. Fertilización con fosfato.....	171
5.1.2. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> en el momento de la siembra.....	171
5.1.3. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> a los 15 días desde la siembra.....	179
5.2. Peso seco de raíces.....	179
5.2.1. Fertilización con fosfato.....	179
5.2.2. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> en el	

momento de la siembra.....	186
5.2.3. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> a los 15 días desde la siembra.....	186
5.3. Concentración de nitrógeno en tallos y hojas.....	186
5.3.1. Fertilización con fosfato.....	186
5.3.2. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> en el momento de la siembra.....	187
5.3.3. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> a los 15 días desde la siembra.....	187
5.4. Concentración de fósforo en tallos y hojas.....	187
5.4.1. Fertilización con fosfato.....	197
5.4.2. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> en el momento de la siembra.....	197
5.4.3. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> a los 15 días desde la siembra.....	197
5.5. Concentración de potasio en tallos y hojas.....	204
5.5.1. Fertilización con fosfato.....	204
5.5.2. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> en el momento de la siembra.....	204
5.5.3. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> a los 15 días desde la siembra.....	205
5.6. Nodulación.....	205
5.6.1. Fertilización con fosfato.....	205
5.6.2. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> en el momento de la siembra.....	213
2.6.3. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> a los 15 días desde la siembra.....	213
5.7. Fructificación.....	213
5.8. Micorrización.....	220
5.8.1. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> en el momento de la siembra.....	220
5.8.2. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> a los 15 días desde la siembra.....	221
6. Estudio de las interacciones entre <i>Bradyrhizobium</i> , <i>Glomus</i> y <i>glycine max</i> cv Hood 75 en un suelo de Castelar, Buenos Aires.....	221
6.1. Peso seco de tallos y hojas.....	221
6.1.1. Fertilización con fosfato.....	227
6.1.2. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> en el momento de la siembra.....	227
6.1.3. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> a los 15 días desde la siembra.....	234
6.2. Peso seco de raíces.....	234
6.2.1. Fertilización con fosfato.....	234
6.2.2. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> en el	

momento de la siembra.....	235
6.2.3. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> a los 15 días desde la siembra.....	235
6.3. Concentración de nitrógeno.....	235
6.3.1. Fertilización con fosfato.....	236
6.3.2. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> en el momento de la siembra.....	236
6.3.3. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> a los 15 días desde la siembra.....	236
6.4. Concentración de fósforo en tallos y hojas.....	256
6.4.1. Fertilización con fosfato.....	256
6.4.2. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> en el momento de la siembra.....	256
6.4.3. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> a los 15 días desde la siembra.....	262
6.5. Concentración de potasio en tallos y hojas.....	262
6.5.1. Fertilización con fosfato.....	262
6.5.2. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> en el momento de la siembra.....	268
6.5.3. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> a los 15 días desde la siembra.....	268
6.6. Nodulación.	
6.6.1. Fertilización con fosfato.....	275
6.6.2. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> en el momento de la siembra.....	275
6.6.3. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> a los 15 días desde la siembra.....	275
6.7. Fructificación.....	282
6.7.1. Fertilización con fosfato.....	275
6.7.2. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> en el momento de la siembra.....	282
6.6.3. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> a los 15 días desde la siembra.....	283
6.8. Micorización.....	283
6.8.1. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> en el momento de la siembra.....	283
6.8.2. Inoculación con <i>G.epigaeum</i> a los 15 días desde la siembra.....	293
B. Ensayos con alfalfa.	
7. Estudio "in vitro" de las interacciones entre <i>Rhizobium meliloti</i> y esporas de hongos micorrícicos.....	293
8. Preparación de inoculantes de micorrizas para cultivos de alfalfa.....	299
9. Ensayo experimental en condiciones de campo con aplicación de "pellets".....	303

10. Ensayos sobre producción de "pellets" para inoculación de alfalfa en suelos ácidos.....	309
11. Aplicación experimental de "pellets" en un campo de la localidad de 9 de Julio, provincia de Buenos Aires.....	309
12. Aplicación experimental de "pellets" en el campo Experimental del INTA Castelar, Provincia de Buenos Aires.....	324
13. Producción de inóculos de micorrizas arbusculo-vesiculares.....	333
13.2. Esporulación.....	338
13.3. Grado de micorrización y esporulación cuando se inoculó con <i>G.epigaeum</i> .....	345
13.4. Grado de micorrización y esporulación cuando se inoculo con <i>G.fasciculatum</i> .....	345
13.5. Grado de micorrización y esporulación cuando se inoculó con <i>G.mosseae</i> .....	350
13.6. Efectos producidos sobre el crecimiento de la cebolla por los diferentes HMAV....	350
13.7. Efectos producidos sobre el crecimiento de la soja por los diferentes HMAV.....	350
13.8. Efectos producidos sobre el crecimiento del sorgo por los diferentes HMAV.....	356
13.9. Efectos producidos sobre el crecimiento del maíz por los diferentes HMAV.....	363
V. Discusión.....	371
VI. Conclusiones.....	388
VII. Bibliografía.....	391



OBJETIVO E INTERES DEL TRABAJO

"Wheat and barley exhaust the  
land... While leguminous  
crops seem to manure it"

Teofrasto (370-285 a. C.)

## I. OBJETIVO E INTERES DEL TRABAJO

Como se deduce de la frase del autor griego que antecede, el valor de las leguminosas en agricultura, es reconocido desde los albores de la cultura occidental. En efecto, Papastylianou (1988), recoge información del citado autor en la que expresa, que los agricultores de la antigua Grecia practicaban el "abonado verde" con leguminosas y las consideraban claves en "rotación de cultivos" (ejemplo en frase introductoria).

Hoy se conoce que el extraordinario interés de estas plantas, tanto en el mantenimiento de la fertilidad del suelo como en Ecología y Productividad Vegetal, está basado en la capacidad para retornar N desde la atmósfera a la biosfera -Fijación de  $N_2$  que tienen dichas especies, cuando se asocian simbióticamente con *Rhizobium* spp específicos. No sólo es abundante la literatura científica sobre fijación biológica de nitrógeno (FBN) sino que también lo es la concerniente al papel que desempeñan en

el establecimiento y desarrollo de las leguminosas y particularmente, en FBN, las micorrizas (simbiosis hongo-planta especializadas en la captación de nutrientes de difusión lenta en el suelo, fundamentalmente fosfato). A pesar de la abundancia de información sobre investigaciones en relación con el impacto de las micorrizas en leguminosas, restan aún por estudiar muchos aspectos mal conocidos, ignorados o investigados fragmentariamente.

Algunos de tales estudios, fundamentalmente los concernientes a las interacciones micorriza-leguminosa-Rhizobium y sus aplicaciones, se abordan en el presente trabajo doctoral con carácter de originalidad. En otros casos, y teniendo en cuenta que las bases de índole Ecofisiológica, de lo que podríamos llamar Biotecnología en micorrizas, debe ser establecida para cada ecosistema, es obvio, que investigaciones, previamente desarrolladas, se cargan de originalidad en dicho "nuevo" ecosistema. También, en el presente trabajo se abordan algunos estudios de estas características, orientados a la aplicación de tales simbiosis microbio-planta en agricultura y, al conocimiento de interacciones entre los dos tipos de microsimbiontes: Rhizobium y hongos formadores de micorrizas, entre sí, y con la planta hospedadora común: La leguminosa.

Los estudios que se presentan en esta MEMORIA doctoral han sido realizados parte en Argentina y parte en España, por ello se eligieron, como leguminosas, objeto de la investigación, dos especies de importancia agronómica elevada en ambos países. Una de estas especies es de tipo

leguminosa "forrajera": la Alfalfa; la otra de tipo leguminosa de "grano": la Soja. El interés de estas especies en ambos países está fuera de todo comentario.

Teniendo en cuenta estudios previos en relación con "la doble simbiosis" y, para profundizar en aspectos de Ecofisiología y Biotecnología de la misma, se planificaron una serie de ensayos con los siguientes OBJETIVOS:

A. Ensayos con soja

1. Evaluar la micorrización nativa en diferentes áreas productoras de soja de la R. Argentina.
2. Estudiar la existencia de diferencias en los niveles de compatibilidad entre distintas combinaciones hongo planta y, en su caso, establecer los ensayos como criterios de selección de micosimbiontes, para su uso en la práctica agronómica.
3. Definir el grado de dependencia a las micorrizas de la soja, en los suelos objeto de estudio, mediante el análisis de las respuestas del sistema soja-*Bradyrhizobium* a niveles crecientes de fosfato en presencia y ausencia de hongos de la micorriza.
4. Investigar, tanto micorrizas como *Rhizobium*, a nivel de la formación de las respectivas simbiosis, y de los efectos de las mismas sobre el crecimiento y nutrición de las plantas. Este objetivo está orientado a optimizar las respuestas según el tiempo de inoculación.

B. Ensayos con alfalfa.

1. Estudiar "in vitro" la interacción Rhizobium-hongo de la micorriza con el fin de intentar justificar desde el punto de vista básico respuestas encontradas en estudios previos.
2. Investigar la infectividad y efectividad de una forma de inoculante y una técnica de inoculación en condiciones de campo.

C. Ensayos orientados a la obtención de inóculos de micorrizas

1. Prospección de sustratos para la multiplicación rizosférica del hongo.

## INTRODUCCION

## II. INTRODUCCION

### 1. LAS MICORRIZAS Y SU IMPORTANCIA EN EL ECOSISTEMA.

#### 1.1. Conceptos generales sobre las relaciones microbio-planta.

Es un hecho bien conocido que, en el suelo, habitan algunas poblaciones de microorganismos que desarrollan actividades de gran interés en el crecimiento y nutrición de las plantas. Entre tales acciones, cabe destacar las transformaciones de la materia orgánica, producción de sustancias reguladoras del crecimiento vegetal (entre ellas, fitohormonas), fijación y movilización de nutrientes de la planta, protección frente a ciertos agentes fitopatógenos, etc.

Las poblaciones de microorganismos del suelo se encuentran en una especie de equilibrio inestable. Si el suelo se mantiene sin cambios y en ausencia de vegetación, el equilibrio apenas se altera, considerándose además que

las fuentes de energía y sustratos son escasos y el carácter predominante de heterotrofia de dichos microorganismos.

Cuando se introducen plantas en el sistema, la situación de los microbios del suelo cambia drásticamente, ya que las plantas son las principales suministradoras de sustratos energéticos al suelo. Los propágulos de los microorganismos que se encuentran en la zona próxima a la raíz son estimulados por dichos sustratos e inician sus procesos de germinación proliferando en dicha zona. En 1904, Hiltner introdujo el término "rizosfera" para describir la parte del suelo influenciada por las raíces, las cuales inducen la multiplicación de microorganismos. Tales poblaciones resultan estimuladas tanto desde el punto de vista cualitativo como cuantitativo en la rizosfera, y las actividades metabólicas que llevan a cabo son de vital importancia para el crecimiento de las plantas.

Entre plantas y microorganismos se desarrollan una serie de interacciones que, de forma resumida, se mencionan en el esquema de Bowen (1980). En este esquema conviene destacar tres hechos: a) La planta es la principal fuerza motriz del sistema desde el punto de vista energético, por lo que los factores que la afectan van a afectar también a los microorganismos. b) La distribución de las raíces, la germinación de propágulos y, el movimiento de los microorganismos hacia la planta, son factores importantes en la colonización de las raíces. c) Los microorganismos que crecen en la superficie de la



raíz pueden inducirla a su vez, a la liberación de sustratos energéticos.

La rizosfera, no es una región bien definida ni homogénea sino que existe un gradiente de estimulación de microorganismos, desde la propia superficie de la raíz hasta 1-2 mm, donde ya el efecto es mínimo (Foster y Bowen, 1982; Curl y Truelove, 1986).

Desde el punto de vista de sus relaciones con la planta, los microorganismos pueden ser divididos en tres grupos: a) saprófitos; b) simbioses parasíticas o patógenos y c) simbioses mutualistas, o simplemente, simbioses, que son los más efectivos en cuanto al aporte de nutrientes a las plantas.

La biología de la rizosfera, con énfasis en las relaciones microbio-planta, microbio-microbio, etc. , han sido tratadas exhaustivamente en la revisión de Barea y Azcón Aguilar (1982 a).

## 1.2. Conceptos generales de micorrizas.

Una de las simbiosis antes aludidas son las llamadas micorrizas. Estas asociaciones simbióticas mutualistas se desarrollan entre las raíces de las plantas superiores y ciertos hongos del suelo. Se trata de una simbiosis prácticamente universal, no sólo porque casi todas las especies vegetales son susceptibles de ser micorrizadas, sino también por su ubicuidad en la inmensa mayoría de los

habitats naturales (Harley y Smith, 1983).

Los hongos de la micorriza, habitantes comunes del suelo, colonizan la corteza de las raíces y establecen con las plantas una serie de interrelaciones biotróficas. La planta suministra con los fotosintetizados sustratos energéticos y esqueletos carbonados al hongo y éste, por medio de su red de hifas externas, capta nutrientes minerales, especialmente los que difunden más lentamente en la solución edáfica, y transfieren estos iones a la planta hospedadora. A las micorrizas se les reconoce un papel clave en la evolución y supervivencia de las plantas, así como una contribución significativa en Producción Vegetal (Harley y Smith, 1983).

Existen varios tipos de micorrizas que globalmente se agrupan en dos, las denominadas ectotróficas y las endotróficas. Las primeras las forman un 3% de especies vegetales de interés forestal ( Pináceas, Fagáceas, Betuláceas). El hongo que es macroscópico (Boletáceas, Agaricáceas...), forma un auténtico manto de micelio que rodea la raíz. Estas micorrizas son manipulables con relativa facilidad. Dentro de las endotróficas, el 96% de las especies vegetales existentes sobre la corteza terrestre, forman las del tipo llamado Arbúsculo-Vesicular (AV). Los hongos causantes son zigomicetos microscópicos pertenecientes a la División Eumicota, Grupo Zygomycotyna, Clase Zygomycetes, Orden Endogonales, Familia Endogonaceae (Walker, 1987). Las micorrizas AV (MAV) son tan antiguas como las propias plantas, como se deduce de la observación del primer registro fósil que se conoce de un vegetal

(fósil Rhynie, datado en 370 millones de años). La existencia de tal coevolución ha dado lugar a diversas interdependencias planta-hongo AV. Así, la mayoría de las plantas necesitan, en un mayor o menor grado, estar micorrizadas para captar nutrientes y crecer adecuadamente. Tal dependencia es aún más marcada por parte de los hongos AV (HMAV). Ya que no se ha logrado evidenciar que éstos sean capaces de completar su ciclo de vida en ausencia de la planta hospedadora, por lo que estos hongos deben ser considerados actualmente simbioses obligados. Estas son las micorrizas implicadas en los ecosistemas objeto del presente estudio.

### 1.3. Formación de MAV.

El proceso de formación de MAV se puede considerar dividido en cinco fases: a) Activación de los propágulos del hongo que persisten en el suelo; b) Estimulación del micelio formado cuando alcanza la rizosfera de una planta susceptible; c) Unión de la hifa a la superficie de la raíz y formación de los primeros puntos de penetración del hongo; d) Progreso de colonización de la raíz, y e) Crecimiento del micelio externo en el suelo que la circunda, (Azcón-Aguilar et al, 1984; Bonfante-Fasolo, 1984). Se acepta que existen en el suelo tres formas de inóculo, las cuales, aunque tienen diferente grado en su capacidad de supervivencia y potencial infectivo, pueden originar la simbiosis. Estas son : a) Esporas de resistencia; b) raíces micorrizadas, o sus fragmentos, procedentes de plantas preexistentes o coexistentes, y c)

posiblemente agregados de hifas que sobreviven en el suelo.

En general estos propágulos poseen escasa actividad saprofítica y su desarrollo depende de los nutrientes de reserva acumulados en las esporas o de la asimilación de fotosintatos derivados de las plantas hospedadoras. Sólo algunos autores (Heap y Newman, 1980; Tommerup y Abbott, 1981) han indicado actividad química en raíces de plantas senescentes o muertas, pero la escasez de mayores indicios en este sentido, promueven a pensar que su ocurrencia es mas bien atípica.

El proceso más específicamente relacionado con su potencial colonizador reside en la germinación de las esporas. Aún cuando estas sean aisladas del suelo, si se las provee de condiciones adecuadas, se puede conseguir germinación hasta el 100% (Azcón-Aguilar et al, 1986 a; Siqueira, 1987). Pero, no se las puede subcultivar con vistas a reproducir su ciclo de vida, a menos que estén en células vivas de sus plantas hospedadoras.

Se conocen dos tipos de esporas entre los HMAV (Siqueira et al, 1985), los géneros *Glomus* y *Sclerocystis* forman clamidosporas y el resto azigosporas, (*Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora* y *Scutellospora*) aunque este último término está en vías de desuso porque existen algunas evidencias de procesos sexuales entre sus integrantes (*Scutellospora*), (Siqueira , 1987).

La germinación de las azigosporas puede ser simple o múltiple y los tubos germinativos para emerger penetran la

paredes multilaminadas de la espora mediante mecanismos enzimáticos o mecánicos, pudiendo crecer varios centímetros. Las clamidosporas germinan como una continuidad de la hifa de sustentación, formándose un micelio fino, ramificado, con pequeñas esporas vegetativas de vida efímera.

El proceso de germinación se mantiene, en condiciones de latencia de las esporas, y es susceptible de ser activado. Según Siqueira(1987) durante esta activación se produce absorción de agua que promovería a una mayor turgencia y cambios biofísicos en las membranas. En ellas, las enzimas proteolíticas almacenadas durante la esporulación, se activarían provocando la hidrólisis de las proteínas de reserva con la consiguiente liberación de aminoácidos al citoplasma. A partir de aquí se sucede la síntesis de nuevas proteínas con funciones específicas determinadas por el genoma fúngico que conformarán el tubo germinativo emergente. Después de esto, el crecimiento micelial se extiende radialmente. Si se halla en el suelo, lo coloniza, sin ser atraído por las raíces de las plantas ( Sanders y Sheikh, 1983; Mosse y Hepper, 1975; Powell,1976).

Los factores que influyen la vida natural de las esporas en el suelo son los implicados con su propio sustrato, como es el pH, el cual puede actuar diferente según la composición del medio (Mosse y Hepper, 1975; Daniels y Trappe, 1980; Siqueira et al , 1985). El pH está muy correlacionado con la disponibilidad de ciertos iones inorgánicos en la solución del suelo, los cuales se sabe

que, en cultivo axénico, inhiben la germinación: Mn, Zn, Ca y Al ( Hepper y Smith, 1976; Hepper, 1979) y también puede afectar la solubilidad de sustancias esenciales o toxinas en la suspensión del suelo.

Diversos agentes (cloramina T, hipoclorito de sodio, antibióticos y biocidas) han sido estudiados para liberar las esporas de contaminaciones no deseadas en el medio axénico. De esta última existen descripciones de los dos efectos contrapuestos, así, algunas especies de Chitridiomycetes y Deuteromycetes actúan como hiperparásitos o contaminantes de las esporas de HMAV, en tanto que Azcón-Aguilar et al (1986 a) señala otros microorganismos como estimulantes de la germinación y del crecimiento saprofítico.

Además de estos factores citados, gran cantidad de sustancias de los mas diversos orígenes han sido experimentadas para evaluar sus efectos sobre la germinación con vistas a lograr un crecimiento independiente del hongo. Pero, hasta el presente, la continuidad del ciclo de vida sólo depende de la presencia de la planta hospedadora (Siqueira, 1987).

Ni la germinación de esporas ni la dirección inicial de las hifas son influenciadas por la presencia de las raíces de una planta hospedadora. Los tubos de germinación no son atraídos por la raíz hasta que, erráticamente, llegan a la rizosfera. Con respecto a las causas de tal estimulación de las hifas del hongo, sólo hacer mención a la influencia que en ello deben tener los exudados

radicales, aunque también es posible que los microorganismos del suelo, activados en la rizosfera, jueguen un papel clave en la estimulación de los micelios AV. Una vez que la hifa infectiva llega a la superficie de la raíz se forma un apresorio sobre las células de la epidermis. No se ha logrado evidenciar si tiene lugar un mecanismo enzimático de tipo lítico asociado a un proceso puramente mecánico (Harley y Smith, 1983). Cuando el hongo ha penetrado en, o entre, las células epidérmicas, coloniza la corteza de la raíz mediante hifas distributivas que se ramifican inter e intracelularmente (Bonfante-Fasolo, 1984). A los pocos días de iniciada la infección, y por división dicotómica repetida de hifas intracelulares, se forman los arbuscúlos. La función de estos es el intercambio biotrófico bidireccional de nutrientes. Los arbuscúlos tienen una vida media de 4 a 14 días y, cuando degeneran, la célula recupera su actividad normal. Posteriormente, se forman las vesículas, que tienen función de almacenamiento de reservas, que son de tipo lipídico. Simultáneamente al desarrollo intraradical del hongo, las hifas de penetración se ramifican externamente y dan lugar a una red tridimensional de micelio, sobre la que se forman esporas de resistencia. El mayor o menor desarrollo del micelio externo, es un hecho clave en la respuesta de la planta a su micorriza (Abbott y Robson, 1984). Concretamente, se conoce que 1 cm de raíz micorrizada puede tener varios m. de hifas externas (Smith y Gianinazzi-Pearson, 1988), y en el suelo adyacente a unas raíces micorrizadas se cuantificaron 55 m de hifas por g de suelo (Tisdall y Oades, 1979).

#### 1.4. Fisiología de las MAV: su papel en nutrición vegetal.

La respuesta de la planta a la MAV es la estimulación del crecimiento y, universalmente se acepta que la principal causa responsable de tal "efecto micorriza" es el incremento de la concentración y/o contenido de P en los tejidos vegetales. También se han encontrado incrementos en el contenido y concentración de otros nutrientes en la planta, especialmente N, Cu y Zn. Asimismo, la micorrización puede ocasionar otros efectos estimuladores basados en mecanismos no mediados por el aporte directo de nutrientes (Harley y Smith, 1983); entre estos cabe destacar el de protección de la planta del ataque de microorganismos fitopatógenos, el cambio en los equilibrios hormonales de la planta y la variación en sus relaciones hídricas en ecosistemas áridos o semiáridos (Cooper, 1984).

Las MAV no sólo incrementan la biomasa vegetal sino que también influyen en la proporción en la cual se distribuye entre la parte aérea y la raíz. La estimulación de la captación de nutrientes y la subsiguiente translocación de éstos a la parte aérea ocasiona que se transfieran a la raíz relativamente menos productos de la fotosíntesis ya que una proporción relativamente mayor de éstos, queda retenida en la parte aérea y utilizada en la producción de materia verde. Como consecuencia, la relación entre el "peso de parte aérea : peso raíz" es más alta en plantas micorrizadas. Este hecho reviste un interés apreciable desde el punto de vista



bioenergético ya que representa un ahorro de consumo relativo de fotosintato en la parte heterotrófica (consumidora) del sistema, en beneficio de un incremento de biomasa autotrófica (Smith, 1980). Numerosos trabajos de revisión recogen estos aspectos de fisiología de las micorrizas, entre estos Harley y Smith, 1983; Azcón-Aguilar et al, 1984; Cooper, 1984; Smith y Gianinazzi-Pearson, 1988 . La información disponible se resume seguidamente: En el proceso de "transporte de fosfato en MAV" desde la solución del suelo a la planta, se distinguen tres fases: a) Captación de fosfatos en la solución edáfica por el micelio externo, b) Translocación del fosfato desde el micelio externo al interno y c) Transferencia del fosfato desde el hongo a las células de la planta hospedadora. Se sabe, que los iones fosfato están en la solución del suelo en concentración muy baja. Aproximadamente, en un suelo normal, esta concentración es de  $0.03 \text{ mg P L}^{-1}$ ; lo que equivale a  $10^{-1} \text{ M}$ . Además, estos iones se desplazan lentamente, mediante difusión, ya que tienden a ser retenidos a lo largo de su recorrido, bien por absorción a diversos tipos de superficies (minerales de arcilla, y otros coloides) o bien por precipitación con Ca, Fe o Al, según el pH del suelo. Una vez que el fosfato llega a la rizosfera, las raíces lo captan a una velocidad superior a la que el ión se desplaza hacia dicha zona; por ello, se forman unas zonas de deficiencia en P alrededor de las raíces que suelen tener 1 y 2 mm de anchura como se ha demostrado con  $^{32}\text{P}$ . Las hifas de la micorriza son capaces, sin embargo, de crecer y ramificarse más allá de dicha zona de deficiencia, llegando hasta distancias de, incluso, varios cm de la raíz. Por lo tanto, las MAV

actúan en gran medida por un mecanismo meramente físico, proporcionando a la raíz un incremento en el número de sitios de absorción de P, que, a su vez, están mejor distribuidos, por lo que exploran un volumen de suelo bastante superior al que una raíz, por sí misma puede utilizar. Adicionalmente, el ión fosfato que ha sido captado por una hifa, queda protegido de su re-fijación por los componentes del suelo. De otro lado, existen otros mecanismos de tipo fisiológico en el funcionamiento de las MAV (Azcón-Aguilar et al. , 1984). Una vez dentro de la hifa, el P se transloca hacia las estructuras intrarradicales del hongo agregado en forma de gránulos de polifosfato, que son impulsados a través del lumen de las hifas por corrientes citoplásmicas hacia los arbusculos. El P circula hacia el interior de la raíz unas 1.000 veces más rápido por las hifas del hongo que por difusión a través de la solución del suelo. Se sabe que el sitio prioritario de transferencia de fosfato desde el hongo a las células radicales es el arbusculo, mediante un proceso que se basa en un mecanismo activo a través de membranas vivas del hongo y planta (Bonfante-Fasolo, 1988; Smith y Gianinazzi-Pearson, 1988).

Con respecto a la absorción de otros nutrientes distintos del P por MAV, se conoce que cuando se trata de nutrientes que circulan con facilidad hacia la rizosfera, como es el caso del nitrato y sulfato, para los que no se suelen crear zonas de deficiencia alrededor de las raíces, la contribución extra de las hifas de la micorriza a la captación de estos nutrientes es bastante limitada. Sin embargo, es de esperar una participación de la simbiosis

en el aporte a la planta de iones que, como el fosfato, difunde más lentamente en la solución del suelo. Tal es el caso del amonio, cuya captación por las hifas de la micorriza es actualmente objeto de estudio, utilizando sales de amonio marcadas con  $^{15}\text{N}$  (Barea et al. , 1987). Con respecto a los micronutrientes, se ha descrito el efecto de la micorriza en la estimulación de la captación de algunos de ellos, aunque los resultados son a veces contradictorios. En el caso del Zn y Cu, se poseen evidencias más consistentes de un incremento de su captación por MAV (Tinker y Gildon, 1983). El papel de las micorrizas en la captación de agua es un tema que se debate actualmente (Peña et al. , 1988; Azcón et al. , 1988; Cooper, 1984). En líneas generales se puede decir que las MAV incrementan la resistencia de las plantas a la sequía. Aunque se están investigando la participación de diversos mecanismos de tipo fisiológico, parece ser que el hecho de que continúen captando fosfatos en condiciones en las cuales la movilidad de este ión es aún más problemática (sequía), es una de las razones más determinantes.

Se han sugerido varios mecanismos por los que las MAV pueden afectar el crecimiento de la planta por acción no directa sobre la nutrición de ésta. Así, tenemos: a) aquellos debidos a la producción de fitohormonas; b) los inducidos mediante una acción de mejora de estructura del suelo a través de la formación y estabilización de agregados por las hifas al hongo; c) los ejercidos a través de una protección de la planta del ataque de patógenos (Harley y Smith, 1983; Cooper, 1984).

Aunque el hongo consume fotosintetizado, compensa a la planta, no sólo por el aporte de nutrientes minerales, sino también estimulando la fotosíntesis (Cooper, 1984). Este tema se extiende posteriormente en este capítulo de Introducción.

#### 1.5. Ecofisiología de las MAV: Bases para manipular "la simbiosis".

Dado que los propágulos de las MAV están virtualmente presentes en todos los suelos, se puede decir que la información de la simbiosis está teóricamente asegurada. No obstante, las propiedades de "infectividad" de los hongos presentes y de "efectividad" en la simbiosis resultante van a ser moduladas considerablemente por varios factores: a) el grado de dependencia de la planta a las micorrizas; b) la "especificidad" de los hongos presentes para la planta en cuestión; c) la efectividad de dichos hongos y d) las condiciones físico-químicas y biológicas del medio (Azcón-Aguilar et al. , 1984).

Se entiende, como dependencia de una planta a las micorrizas, el hecho de que precisan de la condición de estar micorrizadas para desarrollarse adecuadamente. Las distintas especies de plantas muestran un amplio espectro de situaciones que van desde la independencia total, como en Crucíferas y Quenopodiáceas, que no suelen formar micorrizas; hasta una dependencia absoluta, en el caso de ciertas plantas que son incapaces de desarrollarse,

incluso en suelos de elevada fertilidad, si no están micorrizadas. Es obvio que existe una extensa gama de tipos intermedios (Mosse, 1986 a). Considerada en el sentido estricto del término, no hay especificidad, entre especies de HMAV y plantas superiores. Teóricamente, cualquier HMAV puede colonizar la raíz de cualquier planta susceptible; sin embargo, si que existen grandes diferencias entre los distintos endofitos tanto en la morfología de la infección y el nivel de micorrización que producen, como en la efectividad de la MAV formada en una planta determinada. Por ello quizá fuera más lógico hablar de "compatibilidad" en las distintas combinaciones de una planta con especies de hongos AV y características del suelo. Esta compatibilidad se expresa a nivel de efectos de forma que, cuando se inocula una determinada planta con diferentes hongos AV, la respuesta producida a cada uno de ellos suele ser distinta, por lo cual permite seleccionar aquellos más favorables, o compatibles, para el sistema suelo-planta en cuestión (Abbott y Robson, 1984).

Con respecto a la efectividad del HMAV, se puede decir que las características que definen la eficacia de un hongo AV son aquellas relacionadas con la estimulación de la captación de nutrientes y con la persistencia de sus efectos. Es decir, la capacidad de formar un micelio extenso y bien distribuido en el suelo, así como la de producir colonizaciones extensivas en las nuevas raíces que se vayan formando y la eficacia para absorber fosfatos de la solución del suelo, como así también, el tiempo que las hifas permanecen efectivas en el transporte de nutrientes hacia la planta. Es clave considerar también la

mayor o menor capacidad de intercambio nutritivo con la planta, mediante una abundante formación de arbusculos, así como la mínima alteración del metabolismo del hospedador, lo que implica también un bajo consumo de los productos carbonados de la planta por el hongo. En general en las relaciones hongo-hospedante deben desarrollarse interacciones que Gianinazzi-Pearson (1983) denomina conceptualmente como compatibilidad funcional.

Tanto la fertilidad natural de un suelo como los tratamientos con fertilizantes y otras prácticas agronómicas tales como el uso de fitofármacos, se sabe que afectan la formación y el desarrollo de las MAV. La información disponible al respecto indica que la formación de MAV suele afectarse negativamente por la aplicación excesiva de fertilizantes químicos fosfatados y nitrogenados. Esta circunstancia, aunque generalizable, no es suficiente para que se pueda predecir la respuesta de los propágulos de MAV existentes en el suelo a una adición puntual de fertilizantes. Ello se debe a que la aplicación reiterada de tales productos, o sea la llamada "historia de la fertilización del suelo", restringe la selección de hongos adaptados a las condiciones, capaces de formar la micorriza en suelos fértiles o fertilizados (Barea y González, 1987). El efecto del fosfato asimilable, ya sea propio o adicionado, de un suelo sobre la formación de la micorriza ha sido un tema bastante estudiado dado el interés práctico. Se sabe que la adición de cantidades bajas de P es compatible, e incluso complementaria, con las MAV en la estimulación del crecimiento de la planta, pero al incrementar la dosis se

comienza a interferir la formación de la simbiosis, llegándose, incluso, a la inhibición de la colonización. La conclusión general es que el efecto se ejerce desde la planta, más que desde el suelo. ( Azcón-Aguilar et al. , 1984). Finalmente, hay que hacer notar que las diferentes especies de HMAV muestran distintos grados de resistencia a la aplicación de fertilizantes y productos fitosanitarios, lo cual tiene consecuencias de interés práctico en relación con la selección de HMAV "específicos" para una planta en un suelo que ha recibido dichos aportes.

#### 1.6. Biotecnología en MAV: Posibilidades de aplicación práctica.

Un aspecto crítico en el estudio de las MAV, desde el punto de vista ecofisiológico, es conocer cuál es el potencial real en micorrizas de un suelo. Si éste es suficiente, el objetivo entonces será preservarlo mediante las prácticas agrícolas adecuadas. En caso de que tal potencial natural sea insuficiente, hay que tratar de reforzarlo, y, en ocasiones, de sustituirlo, por medio de la inoculación con micosimbiontes adecuadamente seleccionados.

El esquema a seguir para abordar en la práctica una investigación de este tipo puede ser el propuesto por Hayman (1984) que, considera como puntos más importantes a tener en cuenta los siguientes: 1) Estudio de los factores que van a determinar la conveniencia de llevar a cabo una

inoculación con MAV en una situación determinada; 2) Establecimiento de criterios de selección de hongos para ser usados como inoculantes; 3) Metodología apropiada para la preparación de inóculos y 4) Estudio de técnicas de inoculación factibles en la práctica agrícola pertinente.

De acuerdo con lo expuesto anteriormente sobre los factores que afectan la formación y efecto de las MAV, se puede considerar que son tres los factores primarios implicados: a) El grado de dependencia de la planta a las MAV; b) El nivel de fertilidad del suelo y c) La infectividad y eficacia de las poblaciones naturales de HMAV.

En cuanto a la selección de hongos AV como inoculantes, las características fundamentales que debe poseer un hongo AV son las siguientes: a) Infectividad. Esta propiedad viene dada por la capacidad del hongo para producir rápidamente infecciones bajo un amplio margen de condiciones. b) Efectividad. El hongo debe ser eficaz en la captación, translocación y transferencia de nutrientes desde el suelo a la planta. Esto debe ser compatible, igualmente, con las condiciones físicas, químicas y microbiológicas del medio. c) Capacidad de colonización y dispersión del inóculo. d) Supervivencia del inóculo y persistencia de sus efectos.

La preparación de un inóculo masivo de alta calidad y libre de patógenos es un factor que actualmente limita la inoculación de HMAV a escala agrícola, dado el carácter de simbioses obligados de estos hongos. Los inóculos que



ahora se utilizan (Hayman, 1984; Menge, 1984; Dehne, 1987) responde a los siguientes tipos: a) Rizosfera de plantas que han sido previamente micorrizadas en condiciones controladas con propágulos de una sola especie de hongo ("stock" de inóculo). El inóculo consiste en una mezcla de raíces micorrizadas y suelo adherido en el que existe micelio, esporas maduras, etc. Es lo que suele denominarse normalmente "inóculo bruto". En el momento de aplicación pueden usarse inóculos mixtos. b) "Micorriza limpia", es decir raíces bien infectadas, exentas de suelo, obtenidas normalmente en cultivo hidropónico. c) Estructuras del hongo, fundamentalmente esporas. Recientemente Dehne, (1987) revisa una metodología para producir un tipo especial de inóculo consistente en hacer crecer plantas en un substrato inorgánico, básicamente "arcilla expandida". El inóculo deseado de micorriza se desarrolla, penetra entre los poros de los gránulos de la arcilla, allí esporula abundantemente y así tales gránulos pueden usarse como inoculantes a unas dosis, asequibles, de 100-150 Kg Ha<sup>-1</sup>.

En cuanto a las técnicas de inoculación, las más usadas (Hayman, 1984; Menge, 1984; Dehne, 1987) son las siguientes: a) Transplantes de plántulas preinoculadas. Este método es de gran utilidad para los cultivos que emplean el trasplante como técnica agronómica habitual y permite una micorrización controlada antes de exponer las raíces al contacto con endofitos de efectividad dudosa presentes en el suelo de cultivo definitivo. El sistema presenta la ventaja de un ahorro considerable de inóculo, ya que éste va a ser aplicado a una superficie pequeña que incluso puede ser desinfectada previamente. Cuando se

precede al trasplante, la micorriza que se pretende introducir suele estar bien establecida. Aparte de las ventajas ya descritas, que proporcionan una adecuada micorrización, hay que añadir a este caso una mayor resistencia a los riesgos de trasplante. Obviamente, esta técnica no es factible en los sistemas agrícolas que normalmente no utilizan fase de vivero. Es de destacar que en las prácticas de horticultura y fruticultura es cada vez más frecuente producir las plantas en pequeñas superficies o contenedores utilizando sustratos esterilizados. En tales condiciones, y teniendo en cuenta que las plantas implicadas suelen ser bastante dependientes de las micorrizas, la inoculación se muestra necesaria y factible. b) Incorporación del inóculo directamente al surco, bajo las semillas. Este procedimiento se ha practicado utilizando inóculo bruto, lo cual tiene el inconveniente de que se trata de un material bastante pesado ( se calcula que se necesitan 2 ó 3 Ton/Ha) lo que hace que el método sea impracticable en una dimensión agrónomica. c) Aplicación directamente al surco de siembra de una especie de pasta fluída, obtenida a partir de un inóculo concentrado que se suspende, junto con las semillas, en un medio viscoso tal como la metil celulosa. Su factibilidad en agricultura es también limitada. d) Aplicación, como en el caso anterior, de gránulos ("pellets") de inóculo que llevan absorvidas en su superficie o englobadas las semillas. Esta técnica, ha mostrado ciertos resultados esperanzadores en la introducción del trébol micorrizado en pastizales (Hayman et al., 1986). En la obtención del "pellet" se utiliza un material portador obtenido mediante una mezcla de lignito,

turba, o suelo estabilizado con arcilla y el inóculo de micorrizas adecuado, normalmente se añaden una cantidad de semillas apropiadas. Con este material, a humedad adecuada, se tienen gránulos de 1 cm de diámetro, aproximadamente. Es obvio que también tienen dificultades para su uso extensivo, aunque se ha mecanizado su aplicación. e) Aplicación de gránulos de arcilla expandida que contienen esporas (Dehne, 1987), de acuerdo con el breve comentario anterior. Esta técnica presenta posibilidades de interés que los autores evalúan y discuten actualmente (Dehne, 1988).

Finalmente, conviene reseñar que las técnicas actuales de micropropagación y propagación vegetativa de plantas podrían, y en algunos casos se ha conseguido, ser conectada con las de micorrización "in vitro", con el fin de obtener plántulas adecuadamente micorrizadas en las condiciones controladas que preconizan tales metodologías.

De lo dicho anteriormente se deduce que, salvo en el caso de cultivos que utilicen el trasplante y, especialmente, en las ocasiones en que se produzcan plantas sobre sustratos esterilizados, en superficies relativamente pequeñas, con elevada densidad de plantas, la aplicación de las micorrizas a escala agrícola está limitada por la obtención de inoculantes adecuados. Mientras se consiguen tales inóculos, se están usando los ahora disponibles para establecer una serie de bases científicas, tanto ecológicas como fisiológicas, de micorrización controlada. Los ensayos utilizan,

consecuentemente, parcelas piloto y, aún aceptando sus limitaciones, la información que se obtiene está permitiendo progresar en este orden de conocimientos, especialmente en lo que concierne a la ecofisiología de la micorrización.

#### 1.7. Las MAV y su impacto en ecología vegetal.

El papel de las MAV en la evolución de las plantas sobre la corteza terrestre ha sido, y continúa siendo actualmente, sumamente decisivo. En efecto las MAV están implicadas en diversas facetas de la ecología vegetal, entre las que cabe incluir:

- (1) Desarrollo armónico de una "cubierta vegetal" (bosques, praderas, sistemas agroforestales y otros...)
- (2) Cuando se pretende llevar a cabo una agricultura de "mantenimiento" al mínimo coste ecológico y económico.
- (3) Cuando el sistema de producción de plantas por ejemplo micropropagación, cultivo "in vitro" de material vegetal, en la práctica normal de hortofruticultura que utiliza sustratos esterilizados, lo cual ocasiona problemas de establecimiento de un material vegetal obtenido en ausencia de microorganismos del suelo, y por lo tanto de micorrizas.
- (4) En situaciones ecológicas adversas, las cuales en resumen se pueden enumerar como sigue:
  - a) Recuperación de suelos degradados, con tendencia a la desertización.

- b) Programas de estabilización de dunas.
- c) Revegetación en suelos provenientes de excavaciones (minas, canteras, construcciones, por ejemplo).
- d) Colonización de suelos en regiones áridas y semiáridas con problemas de estrés hídrico.
- e) Colonización de suelos derivados de cenizas volcánicas.
- f) Crecimiento de plantas en ciertas situaciones de estrés (salinidad, lluvia ácida, pHs extremos, temperaturas altas...).

## 2. MICORRIZAS EN LEGUMINOSAS.

### 2.1. La simbiosis Rhizobium-leguminosa y su importancia en el ecosistema.

La fijación biológica de  $N_2$  atmosférico, es uno de los procesos de más importancia en el contexto de la nutrición vegetal, ya que mediante él se cicla el N desde la atmósfera a la biosfera según la operación llevada a cabo tanto por bacterias de vida libre como por bacterias que se asocian simbióticamente a las plantas, formando en las raíces generalmente, los clásicos nódulos en donde va a actuar el sistema enzimático bacteriano responsable: La nitrogenasa. La planta proporciona esqueletos carbonados, cofactores y sistemas de regulación para los procesos de nodulación y operación de la nitrogenasa. El amonio formado en este proceso se exporta a la planta para su

integración en las rutas metabólicas que conducen a proteínas y a otros compuestos nitrogenados de crucial incidencia en la nutrición de las plantas, y de los animales que se alimentan de ellas. Los tres grupos bacterianos implicados en FBN simbiótica son: 1) *Rhizobium* spp. que nodulan (con una excepción), las raíces de las leguminosas; 2) *Frankia* spp. actinomicetos que nodulan la raíz de ciertas angiospermas leñosas y 3) *Nostoc* y *Anabaena*; cianobacterias (antes algas verde azuladas), que nodulan las raíces de las Cycadaceas (Gimnospermas).

Indudablemente, la contribución cuantitativamente mayoritaria de la FBN a la productividad vegetal es la que deriva de la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa. La importancia de esta simbiosis está avalada por su incidencia en la producción de alimentos y fibra, la utilización de estas plantas como abonado verde, y en la colonización de suelos con algún tipo de estrés. El proceso de nodulación y sus aspectos ecológicos, fisiológicos y bioquímicos como así también la operación y regulación del enzima nitrogenasa, con todas sus implicaciones genéticas, bioquímicas y fisiológicas, han sido objeto de incontables estudios. Así mismo tanto el impacto de la FBN en el ecosistema como las limitaciones que este proceso tiene, han recibido, y siguen recibiendo, la atención de los investigadores, como es bien conocido. A modo de ejemplo, por su actualidad e implicancia en los ecosistemas objeto del presente estudio se cita la obra de recopilación de Beck y Materon (1988). Aparte del interés en sí, del proceso de FBN, desde el punto de vista de la productividad biológica, uno de los temas más atractivos, en el contexto del impacto de las leguminosas

en el ecosistema, es el papel de estas plantas en la transferencia de N a plantas no fijadoras asociadas, o el uso del nutriente remanente por cultivos subsiguientes. De todos son conocidos los beneficios de las leguminosas en rotación de cultivos, en praderas mixtas con gramíneas, en cultivos mixtos y en intersembra. Estos estudios han sido revisados recientemente (Heichel, 1987; Ofori y Stern, 1987; Weaver, 1988). Los beneficios pueden ser de tipo inmediato (plantaciones mixtas coexistentes), a medio plazo (siguiente cosecha) o a largo plazo (efecto residual). Todos estos procesos se han cuantificado y en la mencionadas revisiones se recopilan los valores numéricos concretos. De cualquier forma, es de hacer notar que estos estudios se están reconsiderado (Weaver, 1988; Danso, 1988) utilizando metodología más avanzadas como las que usan isótopos estables ( $^{15}\text{N}$ ). En el trabajo de Barea et al (1988) se discuten estas metodologías y su aplicabilidad a la evaluación de la FBN y al papel de las leguminosas tanto en la transferencia de N a plantas asociadas, como en la recuperación de nutrientes en cosechas subsiguientes.

## 2.2. Micorrizas y nódulos en leguminosas.

La coexistencia de dos endofitos (HMAV y *Rhizobium*) en raíces de plantas de las subfamilias Papilionoideae y Mimosoideae, en donde se encuentran todas las leguminosas de interés en agricultura (Hayman, 1986), constituye una entidad biológica (una simbiosis tripartita) de sumo interés científico tanto desde el punto de vista básico

como aplicado. El hecho se conoce desde antiguo, pues, en 1944, Asai demostró que las micorrizas eran elemento importante para el crecimiento de muchas especies de leguminosas. Su ausencia provocaba un desarrollo limitado de los nódulos en suelo de baja fertilidad. Hoy se sabe que las leguminosas herbáceas tanto forrajeras como de grano (objeto del presente estudio) y muchas leñosas, forman MAV. Los trabajos de Barea y Azcón-Aguilar (1983) y Hayman (1986) revisan la literatura científica que se ocupa específicamente del tema. Tales revisiones serán utilizadas como base que se complementará con un análisis crítico de la información recientemente publicada. Se excluyen deliberadamente las referencias correspondientes a la simbiosis tripartita en soja, ya que, por estar incluida específicamente en el presente estudio, se les va a dedicar una apartado especial (3).

### 2.3. Interacciones Rhizobium- leguminosa HMAV, a nivel de establecimiento de la MAV o formación de nódulos.

De acuerdo con la revisión de Barea y Azcón-Aguilar (1983), existe apoyo experimental a la existencia de interacciones entre ambos tipos de microorganismos y la planta hospedadora común que se ejercen bien a nivel de estadios de precolonización, cuando los microorganismos comparten microhabitats en la rizosfera, durante el propio proceso de penetración de la raíz; o bien, en el desarrollo de las simbiosis. Como señalan Ames y Bethlenfalvay (1987) se ha prestado poca atención a las



interacciones de los dos microsimbiontes en la rizosfera.

De un lado se ha indicado que aunque la nodulación y la formación de MAV ocurren prácticamente al mismo tiempo, los dos endofitos no parecen competir por sitios de penetración (Smith y Bowen, 1979). No obstante, el establecimiento de HMAV en las raíces puede alterar los ritmos de exudación (Barea, 1986) y producir cambios cualitativos y cuantitativos en las poblaciones de microorganismos en la rizosfera (Ames et al; 1984; Meyer y Linderman, 1986), afectando posiblemente a los *Rhizobium*.

Se ha demostrado que los microorganismos del suelo pueden estimular el desarrollo no-simbiótico de HMAV "in vitro" (Azcon-Aguilar et al, 1986 a) así como el crecimiento saprofítico (posiblemente de forma precaria) de dichos hongos en el suelo y el establecimiento de "puntos de entrada" en la raíz (Azcón-Aguilar y Barea, 1985).

En este ámbito, se han propuesto varios mecanismos para justificar tales interacciones microbianas. Así, se sabe que los microorganismos del suelo producen compuestos capaces de incrementar la permeabilidad celular y ello afecta a los ritmos de exudación de las raíces (Bowen, 1980). Concretamente se ha descrito (Olivares et al. 1977) que los polisacáridos exocelulares de *Rhizobium* incrementan la exudación radical en la leguminosa específica. Posteriormente se verificó que compuestos de este tipo extraídos de *R. meliloti* fueron capaces de incrementar el nivel de micorrización en *Medicago sativa* (Azcón-Aguilar et al. , 1980).

De otro lado se ha comprobado que extractos libres de células de un cultivo de *R. meliloti* que contenía fitohormonas de tipo auxínico, giberelínico y citoquinínico incrementó los niveles de colonización AV en raíces de *M. sativa*, de manera similar a sustancias puras (auxinas, giberelinas y citoquininas) añadidas a la misma concentración que la encontrada para ellas en los extractos citados (Azcón et al. 1978; Azcón-Aguilar y Barea, 1978). Los MAV producen también fitohormonas (Barea y Azcón-Aguilar, 1982 b), se ha indicado un papel relevante de estas sustancias en el desarrollo y función de la simbiosis (Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi, 1986). Todo ello enmarca complejos mecanismos de regulación de flujos y efectos hormonales en la doble simbiosis que pueden estar implicados en la formación de las mismas.

Hay evidencias de que la estirpe/cepa de *Rhizobium* no cambia los niveles de micorrización en unos casos (Badr El-Din y Moawad (1988), mientras que en otros si los altera (Azcón-Aguilar et al., 1982).

#### 2.4. Efectos de las MAV sobre la FBN mediados por el aporte de P.

Hoy en día está completamente establecido que la micorriza actúa positivamente sobre la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa debido a que induce incrementos tanto en la nodulación (infectividad) como en la efectividad del sistema fijador. En una extensa literatura

científica recogida en trabajos de revisión recientes (Barea y Azcón-Aguilar, 1983; Hayman, 1986; Barea et al., 1988) se discuten diversos aspectos de la influencia de las micorrizas en la capacidad colonizadora del *Rhizobium* así como en el número y tamaño de los nódulos formados y en el desarrollo de la actividad nitrogenasa. Estos efectos parecen ser debidos, en gran parte, a las mejores disponibilidades en fósforo de las plantas micorrizadas (Gueye et al., 1987). El hecho es crítico ya que concretamente Mosse et al. (1976), se encuentran que la concentración de P en los tejidos de la planta debe ser superior al 0.15% para que se produzca nodulación y que el nódulo usualmente requiere, y posee, 3 veces más fósforo que la raíz que lo soporta. De hecho se sabe que la actividad nitrogenasa depende de un aporte relativamente elevado de P ya que 21 moles de ATP son requeridos para la fijación de 1 mol de  $N_2$ .

Un tema bastante discutido fué si el "efecto micorriza" sobre la nodulación y la FBN es una mera consecuencia de una acción general sobre el crecimiento y nutrición fosfatada de la planta o si existe un efecto "más dirigido" al nódulo. Algunos autores apoyan la idea de que los efectos de la micorriza sobre la nodulación se ejercen a través de la planta, y que, por tanto, la interacción *Rhizobium*-HMAV es un caso de "mutualismo indirecto" (Cluett y Boucher, 1983). No obstante la conclusión general es que tal efecto indirecto tiene una gran participación. Sin embargo, también se ha demostrado que existe una estimulación "preferencial directa" de la función del nódulo por la micorrización. Así, por ejemplo,

Smith y Daft (1977) encontraron que las plantas micorrizadas tenían una concentración de N (%) superior que las plantas control con valores similares de peso seco y parecida relación entre el peso seco de la parte aérea/raíz. Posteriormente Smith et al. (1979), en un ensayo de tipo "time-course", confirmaron que el efecto de las micorrizas sobre la nodulación y actividad nitrogenasa ocurría antes que los efectos de la misma sobre el crecimiento. Los autores atribuyen el hecho a que los nódulos, debido a su gran demanda de fosfato y proximidad a las células colonizadas por arbusculos (donde se estaba liberando el nutriente), actuaban como sumidero inmediato del mismo. Otra prueba de la existencia de la demanda especial de P por el nódulo, "independiente" de la ejercida a partir de un efecto mediatizado por el aporte general de P a la planta, es la que se deduce del trabajo de Asimi et al. (1980). Estos autores aplican dosis crecientes de fosfato a una leguminosa doblemente simbiótica y encuentran que primero se elimina el efecto de las MAV sobre el crecimiento, sin afectar a la nodulación ni FBN, y, progresivamente, al ir aumentando la dosis, se va eliminando el efecto micorriza sobre nodulación, y a dosis más altas, el ejercido sobre la actividad nitrogenasa.

#### 2.5. Efectos de las MAV sobre la FBN mediadas por otros nutrientes distintos del P.

Teniendo en cuenta que las leguminosas tienen especiales demandas en otros nutrientes, tales como

molibdeno, cobre, cobalto, calcio, hierro, zinc, etc (Munns y Mosse, 1980; O'hara et al., 1988) el aporte de algunos de estos nutrientes por MAV podría estar implicado en el efecto de la simbiosis sobre la FBN. Trabajos recientes (Krishna y Bagyaraj, 1984; Pacovsky, 1986; Kucey y Jansen, 1987) confirman que el beneficio que las MAV proporcionan a las leguminosas, está directamente implicado en el aporte de Fe, Zn y Cu. Con relación a los macronutrientes, el trabajo de Saif (1987) indica un efecto positivo de las MAV en la adquisición de K, Ca y Mg. Colateralmente a esta temática, un caso de interés, es la posible contribución de las MAV a que las plantas, específicamente las leguminosas, capten N del suelo. El hecho tiene gran interés en general, pero representa una situación especial para las leguminosas ya que ello podría afectar la FBN. En realidad parece ser que tales efectos puestos de manifiesto por Barea et al. (1987); Kucey y Bonetti (1988); Carpenter y Allen (1988), incluso con apoyo en técnicas isotópicas  $^{15}\text{N}$  en los dos primeros trabajos, no perjudican la FBN.

#### 2.6. Efectos de las MAV sobre la FBN no mediados por el aporte de nutrientes.

Además de las acciones de las MAV sobre el proceso de nodulación, comentadas en el apartado 2.3. precedente, se han descrito otros efectos no-nutricionales, los cuales relacionados con la fisiología de la doble simbiosis, parecen estar implicados en aspectos tales como el proceso de fotosíntesis, distribución de fotosintetizados,

relaciones hídricas en la planta, regulación de procesos hormonales, etc. Lo cierto es que la respuesta de la planta a una doble colonización, se sabe que es compleja y, que depende de lograr los correspondientes equilibrios entre los tres miembros de la simbiosis que, en muchos casos, sólo se explican por la intervención de procesos de regulación funcional que ocurren adicionalmente a los relacionados con el aporte de nutrientes por los microsimbiontes (Pacovsky et al ., 1986). Estos van a ser tratados a continuación.

En primer lugar hay que considerar los procesos de tipo hormonal. En parte porque el hongo produce hormonas (Azcón-Aguilar y Barea, 1980; Barea y Azcón-Aguilar, 1982 c) o bien porque alterna los equilibrios hormonales (Allen et al., 1980 y 1982), algunos efectos de la micorrización sobre el crecimiento y morfogénesis de plantas (incluidas leguminosas) parece asociadas a un mecanismo mediado por esas sustancias (Azcón et al. 1978).

De otro lado, las micorrizas producen cambios en la distribución de fitomasa entre parte aérea y raíz (Smith, 1980). Se sabe que estos se ejercen mediante controles de tipo "feed-back" sobre la bajada de fotosintetizados desde la parte autotrófica de las plantas a la heterotrófica (raíz + micorriza + nódulos). El mero aporte de nutrientes por la micorriza interviene en tales regulaciones, pero se sabe que otros mecanismos de naturaleza hormonal pueden estar implicados en el efecto de las MAV (Azcón-Aguilar et al ; 1984). Trabajos recientes en leguminosas corroboran tales efectos (Azcón-Aguilar et al, 1986 b; Jakobsen, 1987).

Otro aspecto es el papel de las MAV ayudando a la planta ( y a la simbiosis) a superar situaciones de estrés. Con respecto a la sequía, trabajos recientes con leguminosas (Peña et al, 1988; 1988; Azcón et al, 1988) confirman que las hifas de las MAV continúan introduciendo en la planta nutrientes poco móviles en condiciones de sequía, en las que es aún más crítica la movilidad de iones. En el último trabajo citado se demuestra, usando  $^{15}\text{N}$ , un efecto positivo, sobre la FBN en condiciones de elevada sequía. En los tres trabajos mencionados se revisa la literatura sobre el tema.

Otras temáticas que han recibido alguna atención son las concernientes a otra situación de estrés, cuya toxicidad para la FBN es aliviada por MAV. Por citar algunos estudios recientes, Pfeiffer y Bloss (1988) y Azcón et al, (1988) presentan evidencias, en el último caso usando  $^{15}\text{N}$  del efecto de las MAV.

El significado de las MAV en la protección frente a patógenos de la raíz ha sido estudiado para leguminosas (ver Hayman, 1986) habiéndose demostrado beneficios de las MAV en este sentido. Otro aspecto a considerar es establecer la naturaleza (localizada o sistémica) de las respuestas de las interacciones entre los microsimbiontes, obviamente una acción localizada apoyaría efectos no nutricionales dada la movilidad del fósforo y otros nutrientes dentro de la planta. Mediante el uso de un sistema de raíz compartida en el que sólo se micorriza una parte del sistema radical, Ames y Bethlenfalvay (1987) han

analizado la problemática antes aludida. Las conclusiones de su trabajo indican que existe una influencia localizada, no-sistémica, y no mediada por P , del hongo de la micorriza sobre actividad de los nódulos.

## 2.7. Papel de las micorrizas en la transferencia de N en comunidades mixtas de plantas leguminosas y no-leguminosas.

Se conoce que una fracción de nitrógeno procedente de FBN puede ser compartido con plantas no fijadoras que crecen asociadas a las leguminosas, en un pastizal o en cualquier sistema agroforestal, por ejemplo. (Haynes, 1980; Ofori y Stern, 1987; Weaver, 1988).

La posibilidad de que la micorriza de una no-fijadora capte compuestos nitrogenados en la rizosfera de la leguminosa, incluso implicando micelio de una micorriza común de las dos plantas (Newman, 1985) se ha apuntado, en cuanto a su implicación en la transferencia de nutrientes entre plantas de distintas especies que convive en proximidad (Francis et al. 1986). El caso de leguminosas y gramíneas asociadas ha sido considerado, desde este punto de vista, teniendo en cuenta que las leguminosas son más micotróficas que las gramíneas. Las micorrizas pueden compensar la ventaja competitiva de las gramíneas para buscar fosfato, acción que ejecutan más hábilmente éstas que las leguminosas por diferencias en las características de los respectivos sistemas radicales (Haynes, 1980; Munns y Mosse, 1980). Este efecto de la micorrización se puso de



manifiesto en varios estudios que revisan Barea et al. (1988).

Los estudios sobre rotación de cultivos en los que se implican leguminosas son de gran interés desde el punto de vista de manejo del sistema micorriza. Así se ha puesto en trabajos experimentales (Sieverding y Leihner, 1984), y de revisión (Barea et al, 1988).

#### 2.8. Coste energético de la asociación Rhizobium-leguminosa- micorriza.

Puesto que ambos micro-simbiontes necesitan obtener compuestos carbonados de la planta hospedadora común, lo cual representa un gasto de fotosintetizados, se ha prestado una atención considerable a valorar el costo energético de la simbiosis tripartita. Se han llevado a cabo algunos ensayos utilizando  $^{14}\text{C}$ ; así Pang y Paul (1980) encontraron que el consumo extra de C en micorrizas de Vicia faba equivalía a un 10% del total fotosintetizado. Posteriormente Kucey y Paul (1982) comprobaron que los nódulos de V. faba no micorrizada utilizaron un 6% de fotosintetizado, mientras que los de plantas micorrizadas consumían un 12%, además el hongo, "per se" también utilizó un 4% adicional, para su propio metabolismo y desarrollo. Paralelamente, también se encontró que el ritmo de fijación neta de C expresada como "g de C. g de materia seca en parte aérea<sup>-1</sup>". incrementó en las plantas noduladas y micorrizadas, lo cual "compensaba" el coste adicional de C. En estos ensayos se

suministró N y/o P a las plantas control correspondientes para obtener plantas comparables, sabiendo que una diferencia en el aporte de nutrientes puede falsear las conclusiones en el estudio de efectos de las MAV no mediadas por el aporte de P.

Llegado este punto hay que hacer constar que la gran mayoría de los estudios sobre este tema, y especialmente las aportaciones más recientes, son las llevadas a cabo con soja. Por razones antes expuestas se reservan los comentarios correspondientes para el apartado 3 de este capítulo.

#### 2.9. Efectos de los fertilizantes fosfatados sobre la doble simbiosis.

Posiblemente la interacción P por MAV es uno de los temas más estudiados en este contexto (Mosse, 1986 b). Unas dosis de fosfato llamadas agronómicas pueden inhibir la formación y/o función de las MAV. Sin embargo es obvio que la operación correcta de una micorriza puede inducir a un empobrecimiento de los suelos en P, por lo que es lógico pensar en aplicaciones de fosfato racionales a sistemas Rhizobium- leguminosa-MAV. Esto suele hacerse utilizando dosis controladas de P soluble o bien fosfato natural, de difícil utilización en muchos casos.

Con respecto al P soluble, es recomendable elaborar curvas de respuesta al P en sistemas Rhizobium-leguminosa micorrizados y no. Ello ayudará, de un lado a definir el

grado de dependencia a la MAV del sistema; y por otro, servirá para seleccionar la dosis de P que, junto con MAV, produzca el máximo efecto sobre FBN. Estudios ya clásicos, revisados por Barea y Azcón-Aguilar (1983) o recientes (Salinas et al. 1985; Suman Bala y Singh, 1985; Subba Rao et al., 1986; Lioi y Giovanetti, 1987; Purcino et al., 1986; Sainz y Arines, 1988) confirman que a niveles medios de P se consiguen mejores respuestas a la micorrización.

Con respecto a la utilización de fosfato natural conviene recordar que las MAV no solubilizan fosfato, sino que agilizan la captación del que se disuelve físico-químico o bioquímicamente (Barea et al., 1983). En suelos ácidos las MAV ayudan a la utilización de fosfatos de roca por sistemas Rhizobium-leguminosa (Hayman, 1986; Mosse 1986 b; Ikram et al. 1987).

En suelos neutros y neutro-alcalinos, se han encontrado algunas respuestas favorables a la interacción fosfato natural por MAV sobre FBN (Barea et al., 1983). En este contexto hay que referir que un estudio en el que se utilizó fosfato insoluble marcado con  $^{32}\text{P}$  (Azcón-Aguilar et al., 1986 b) se comprobó que una micorrización adecuada mejoró la utilización de dicho compuesto, al mismo tiempo que incrementó el porcentaje de utilización por la planta del fertilizante, lo que repercutió en el desarrollo del sistema Rhizobium-leguminosa empleado.

#### 2.10. Significado ecológico de las MAV en leguminosas.

La susceptibilidad de las leguminosas a formar una doble simbiosis confiere a estas plantas un interés singular desde el punto de vista ecológico. Así, se puede decir que la importancia de las MAV en los aspectos listados en el apartado 1.7. de este capítulo adquieren un carácter especial si la planta en cuestión es una leguminosa. Aparte de una información de base sobre el tema en la que no se insiste, pero se recomiendan las revisiones de Barea y Azcón-Aguilar (1983) y Hayman (1986); se comentan algunos casos puntuales de interés. Por ejemplo, un caso curioso es el papel de las leguminosas como fuente de inóculo en una sucesión vegetal en las que ellas son colonizadoras pioneras, en algunos casos. Desde el punto de vista evolutivo, como eslabón de conexión entre los primitivos habitats endotróficos y los más posteriores ectotróficos (ver Roldán-Fajardo y Barea, 1987), es de destacar la existencia de plantas capaces de formar MAV y micorrizas ectotróficas (MEC). Este es el caso de Eucaliptus (Malajczuk et al., 1981). Estas plantas constituyen la especie predominante en los bosques de Australia en donde forma ecosistemas equilibrados con leguminosas dotadas de MAV en el sotobosque. Cuando se acumula materia orgánica (manto) en el bosque de Eucaliptus, las leguminosas quedan eliminadas y se favorece el desarrollo de MEC. El fuego, componente natural de los ecosistemas de Australia, hace un nuevo ciclo ya que después de él empiezan a crecer leguminosas con MAV y a rebrotar los Eucaliptus, que comienzan a ser colonizados por HMAV a partir de las raíces de las leguminosas (Malajczuk et al., 1981).

En otro orden de cosas, Malajczuk et al. (1981), citan una asociación importante para la estabilidad ecológica de estos bosques templados endotróficos. Se refieren a la MAV desarrollada por Eucaliptus con leguminosas leñosas, concretamente, Acacia spp. Realmente, la importancia forestal de leguminosas formadoras de doble simbiosis: con Rhizobium sp. y HMAV, o de plantas actinorrízicas y micorrízicas, resulta crítica en virtud de sus implicaciones simultáneas en los ciclos del P y del N. La existencia de nódulos fijadores de N<sub>2</sub> y endomicorrizas en plantas arbóreas se conoce desde hace un siglo y desde entonces se han llevado a cabo varios estudios, experimentales (Roskoski et al., 1986; De la Cruz, 1988); o revisiones (Roldan-Fajardo y Barea, 1987), como ejemplos recientes.

Desde el punto de vista evolutivo, en relación con las micorrizas en leguminosas arbóreas, es de destacar que las plantas de las subfamilias Faboideae (antes Papilionoideae) y Mimosoideae usualmente están noduladas y tienen micorrizas del tipo AV. En cambio las Caesalpinoideae, raramente forman nódulos y normalmente forman MEC. De acuerdo con Malloch et. al., (1980), autores de estas observaciones, los nódulos y las MEC podrían ser considerados como medios alternativos para suministrar N a las plantas ya que, como se conoce, la capacidad de mineralizar N orgánico es bastante común en hongos EC.

En lo referente a pastizales, sólo un breve comentario adicional al papel de las MAV. Se sabe que la

estabilidad de una pradera depende del equilibrio entre sus plantas fijadoras de  $N_2$  fundamentalmente leguminosas, y no-fijadoras. Como el proceso de fijación de  $N_2$  precisa un consumo extra de fosfato y las leguminosas suelen tener un sistema radical poco hábil para buscar dicho nutriente, estas plantas necesitan estar micorrizadas para desarrollar el proceso que introduce N en el ecosistema. Las leguminosas son, en efecto, muy micotróficas y las MAV desempeñan, por tanto, un papel estabilizador en los fenómenos de competencia entre leguminosas y gramíneas en el pastizal (Barea y Azcón-Aguilar, 1983; Hayman, 1986).

En otro orden de cosas, se conoce que los microorganismos del suelo por su participación directa en el establecimiento de las plantas, su influencia en regeneración de materia orgánica, estabilización del suelo y efectos en diversas actividades, juegan un papel fundamental en los procesos de revegetación en ambientes xéricos (Skujins, 1984). Las MAV concretamente, tienen una importancia básica en estos procesos en ambientes deteriorados por diversas causas. Este hecho cobra especial interés en el caso de especies leñosas y perennes. Los trabajos de Trappe (1981) describen la presencia de MAV en leguminosas leñosas crecidas en suelos áridos y semiáridos (Bethlenfalvay et al., 1984; Skujins 1984) analizan este hecho no sólo, en cuanto a la ventaja en sí de la micorrización para la captación de agua y ciclado de nutrientes en estos suelos, sino también, en cuanto a ser estas plantas perennes reservorio de infectividad para las herbáceas anuales.

Lo expresado para la recuperación de suelos en zonas desertizadas es igualmente aplicable a otros ambientes en los que dominan condiciones poco apropiadas para la implantación vegetal, como son los que se desarrollan sobre restos de turberas y minas, terrenos encharcados o habitat salinizados. En este sentido sólo mencionar un excelente trabajo de revisión de Mosse (1986 a) en el que analiza y discute el significado de las MAV en el desarrollo de plantas en condiciones ecológicas adversas, enumeradas anteriormente, así como en el caso de lo que se puede llamar "agricultura de mantenimiento".

Como puede deducirse de lo anterior, y a manera de epílogo, se puede decir que las leguminosas adecuadamente noduladas y micorrizadas ofrecen una contribución a lo que podría catalogarse como una alternativa para una agricultura que, marcada actualmente por unos costos elevados de fertilizantes tradicionales, debe utilizar métodos biológicos para facilitar, en consecuencia, los nutrientes que la planta necesita, a un menor coste ecológico y económico. Teniendo en cuenta la condición de "casi universalidad" de las MAV así como las dificultades actuales para la práctica de la micorrización controlada, lo que exige un fuerte nivel de investigación para lograr progresar en esta faceta de la biotecnología del suelo, es de interés recordar la importancia que tiene el potencial natural de micorrizas de un suelo. En primer lugar, mediante la investigación adecuada, se pueden predecir hasta qué punto ciertas prácticas agrícolas no deben aplicarse para preservar dicho potencial; en segundo lugar, cuáles de dichas prácticas pueden optimizar la

acción de las MAV naturales y, finalmente, no olvidar que esas micorrizas propias de suelo siempre deben ser tenidas en cuenta cuando se deba practicar la inoculación de HMAV seleccionados de acuerdo con los criterios científicos antes discutidos. En este sentido se han de tener en cuenta los estudios de dispersión del inóculo (Scheltema et al., 1985) y de compatibilidad de endofitos (Lopez-Aguillon y Mosse, 1987; Arines et al., 1988), por referir sólo algunos ejemplos recientes, referidos a leguminosas.

### 3. INTERACCIONES BRADYRHIZOBIUM-SOJA-HONGOS DE LA MICORRIZA

#### 3.1. Consideraciones generales.

Aunque fue en 1896 cuando Janse, describió por primera vez la coexistencia de una bacteria y un hongo, como integrantes de una asociación tripartita establecida en las raíces de leguminosas; como se indicó anteriormente, no fué hasta 1944 cuando, Asai, demostró que la nodulación de las leguminosas era en gran manera dependiente de la formación de micorrizas. Desde entonces y dada la repercusión de dicha doble simbiosis en el incremento del crecimiento y/o rendimiento de estas plantas, el tema ha recibido una considerable atención por parte de los investigadores en esta área. Aparte de su importancia práctica, otros factores le confieren interés al tema, fundamentalmente, porque la compatibilidad



fisiológica de los microsimbiontes asociados, es muy compleja; en este sentido, merecen un tratamiento particular los estudios llevados a cabo con soja. Las respuestas a la micorrización, en términos de incremento de biomasa vegetal ó de producción de grano, están influenciadas por el grado de dependencia del cultivar ó ecotipo de la planta hospedante, de las especies o cepas endofíticas y del nivel de fertilidad del suelo (Gerdemann, 1968). Estos conceptos se van a considerar a continuación, manteniendo como denominador común un conjunto de aspectos que relacionan la fisiología de la simbiosis tripartita en lo que concierne a las interacciones de los microsimbiontes y a la demanda que ejercen sobre la planta, en compensación a los beneficios que esta recibe de sus endofitos.

### 3.2. Características generales de la planta hospedante.

Es bien conocido que la soja se cultiva por la singular riqueza proteínica de sus granos. Durante la formación de estos frutos, tiene lugar una demanda de nitrógeno superior a la de otros cultivos agronómicos (Lawn y Brun, 1974; Sinclair y Wit, 1976; Zapata et al., 1987). En consecuencia, si se pretende lograr altos rendimientos, la mencionada etapa será crítica ya que si no se consigue satisfacer la demanda de los frutos por disponibilidad de nitrógeno en el suelo o, fundamentalmente por la fijación de nitrógeno atmosférico, se requerirá una adición de fertilizante nitrogenado.

Algunos autores señalan que la aplicación de hasta 40 Kg N. ha<sup>-1</sup>, durante el llenado de los granos, aumenta los rendimientos sin inhibir el proceso de fijación de nitrógeno (Afza et al., 1987).

La doble simbiosis en las leguminosas, como se ha discutido anteriormente, provee a las plantas de mecanismos biológicos capaces de disminuir este requerimiento de fertilizante y además, les permite reducir el costo de su propia actividad mediante una serie de cambios en la distribución de fotosintetizados (Pang y Paul, 1980; Kucey y Paul, 1982).

### 3.3. Relaciones de dependencia entre los componentes de la simbiosis tripartita.

Como se sabe, el proceso de fijación de nitrógeno para ser eficiente, requiere de niveles adecuados de fósforo en la planta, los cuales pueden ser mantenidos por actividad de las MAV, que a su vez, necesitan de los fotosintatos para sobrevivir (Barea y Azcón-Aguilar, 1983; Hayman, 1986). Cada uno de los asociados, se beneficia si existe un equilibrio entre la capacidad metabólica de la planta y el desarrollo de biomasa de los endosimbiontes (Tinker, 1975).

Cuando los niveles de fósforo disponible en el suelo son adecuados, la planta micorrizada experimenta un aumento en el crecimiento relacionado con un balance entre lo que capta el micelio extramático del HMAV y (por tanto el sistema productor) y el sistema de almacenamiento,

transferencia, y gasto sin aporte. Esa relación de micelio extraradical/intraradical disminuye a través del tiempo. Como el micelio extramático es el que capta los nutrientes desde el suelo, esta relación extra/intramático se ha propuesto como un índice de la utilidad del endofito para el huésped. Altos valores de este índice coinciden con un aumento en el crecimiento de la soja (Bethlenfalvay et al, 1983).

Si la formación de biomasa del hongo compite con la soja por el P disponible o por la fuente de carbono, la asociación puede transformarse en parasítica con graves implicaciones sobre el desarrollo del hospedante (Bethlenfalvay et al, 1983). Este fenómeno, ha sido descrito, en general, en estadíos iniciales de colonización micorrícica y de nodulación, donde el drenaje de carbono que provee la planta no está aún compensado por la actividad de los endofitos y puede inducir a una depresión en el crecimiento de la planta (Smith, 1980). También se debe considerar que, una vez establecido el componente intraradical del hongo, puede ocurrir la formación de un gran número de vesículas, con material de reserva que, aparentemente, no contribuye a la nutrición de la planta (Bethlenfalvay et al, 1982). La disponibilidad de fósforo en el suelo es crítica y determina un comportamiento diferente de las plantas micorrizadas. Si la concentración está por encima o por debajo del nivel óptimo capaz de mantener la micotrofia, se llega a un umbral donde la planta se independiza de la micorriza para la captación de fosfato (Bowen, 1978).

Altos niveles de fósforo pueden resultar en un aumento de las estructuras vegetativas de la soja, en detrimento de la formación de granos, como así también en la disminución de la concentración de nitrógeno en los tejidos vegetales resultante de la dilución de nutrientes ocasionada por dicho desarrollo vegetativo (Pacovsky y Fuller, 1986). El fósforo adicional reduce la concentración de carbohidratos solubles, pero incrementa la materia seca porque el fósforo, que es un requisito esencial para todas las reacciones de transferencia de energía, activa la fotosíntesis y sus productos son usados inmediatamente para el crecimiento de la planta (Brown y Bethlenfalvay, 1986). En efecto, el fósforo adicional incorporado por las MAV permite una transferencia de energía más eficiente y, los productos de la fotosíntesis pueden ser usados inmediatamente para el desarrollo de materia seca (Same et al, 1983). También disminuye la micorrización y puede llevar a la planta a un estado de "inmunidad" respecto a la colonización micorrícica (Bethlenfalvay et al, 1983; Barea y Azcón-Aguilar, 1983). Aunque en algunos casos, la adición de fósforo que reduce el porcentaje de micorrización, no disminuye la longitud de raíz colonizada debido a un crecimiento simultáneo de las raíces a estos niveles de fertilización (Asimi et al., 1980). Si, por el contrario, la baja disponibilidad de fósforo, se convierte en el factor limitante, las plantas micorrizadas mantienen un equilibrio nutricional bien balanceado (Barea y Azcón-Aguilar, 1983) y presentan una respuesta mediada por el hongo que las diferencia de las no-micorrizadas (Kawai y Yamamoto, 1986; Pacovsky et al, 1986; Yamada e Ikeda,

1987).

Cuando las plantas se someten a una variación en los niveles de fósforo disponible, se pone de manifiesto el efecto nutricional mencionado y las plantas no-micorrizadas pueden llegar a adquirir un desarrollo similar al de las micorrizadas que crecen con baja disponibilidad de fósforo, al menos en algunas de las dosis de fertilización usadas. Esta equivalencia, que se consigue con el reemplazo de la acción micorrícica por la adición de fósforo que es captado directamente por la planta, es importante en estudios sobre la doble simbiosis. En el caso de la soja, dicha equivalencia, parece estar restringida sólo a la morfología, porque ciertamente la fisiología de las plantas micorrizadas presenta particularidades aún cuando las plantas tengan igual peso seco, e inclusive igual relación peso seco aérea/peso seco raíz (Pacovsky, et al, 1986). Sin embargo sigue siendo una base de estudio suficiente para interpretar efectos diferentes a los mediados por el incremento en el aporte de P, ya que la fijación de CO<sub>2</sub> y de N<sub>2</sub>, es potenciada por la colonización micorrícica, siempre que se comparan con plantas no micorrizadas de igual desarrollo o nutricionalmente equivalentes (Brown y Bethlenfalvay, 1987).

En ensayos en los que se comparaban plantas de soja inoculadas con *Bradyrhizobium* y *Glomus mosseae* o, fertilizadas con distintas dosis de fosfato (Brown et al, 1988), demostraron un aumento en la eficiencia del uso del fósforo para la fijación de CO<sub>2</sub> por soja micorrizada

respecto a las plantas que crecían en el menor nivel de fosfato ( $0.3 \text{ mM KH}_2\text{PO}_4$ ), en tanto que la actividad nitrogenasa fué menor y también las plantas micorrizadas tuvieron mayor número de nódulos pero, menor masa nodular y actividad nitrogenasa en comparación con las que crecieron con el mayor nivel de fosfato ( $0.6\text{mM KH}_2\text{PO}_4$ ). A pesar de la menor actividad nodular, las micorrizadas tuvieron mayor porte y mayor concentración de nitrógeno que las altamente fertilizadas, sugiriendo efectos no nutricionales de las plantas micorrizadas mediante un mecanismo llevado a cabo por el hongo pero mediado por el huésped (Brown y Bethlenfalvay, 1987). Quizas un buen criterio para evaluar la equivalencia sea el propuesto por estos autores, en el cual se le asigna una importancia prioritaria a la eficiencia con la que las plantas simbióticas o fertilizadas utilizan los nutrientes para conseguir un nivel comparable de actividad.

Como se discute posteriormente, el estrés de carbono, produce efectos depresivos sobre el funcionamiento de las plantas de soja, de las micorrizas y del *Bradyrhizobium*, con una distribución preferencial de los recursos de la planta hacia las raíces, provocando un patrón de respuesta diferente para el nódulo donde, además, su actividad puede ser mantenida, a expensas del desarrollo de su biomasa. También la biomasa fúngica se afecta en menor medida que el crecimiento vegetativo de la planta (Bayne et al, 1984).

Estos resultados indican el potencial fisiológico que tiene la soja para adaptarse a situaciones de depresión de

la fotosíntesis, manteniendo en actividad a sus endofitos; de cuyo establecimiento, resulta una relación simbiotrófica y, específicamente para las micorrizas, de tipo micotrófica, como fué definida por Cooper (1975). A pesar de ésto, no se descarta la posibilidad de que también el HMAV prolifere como un mecanismo de sobrevivencia frente a la disminución de fuente carbonada (Bethlenfalvay y Pacovsky, 1983).

De acuerdo con estos conceptos cabe hacerse una pregunta ¿Hasta qué punto la planta es capaz de modificar su metabolismo para mantener a sus simbioses en actividad?

#### 3.4. Coste energético de la doble simbiosis y compensación fotosintética.

Para contestar a la pregunta anterior Harris et al. (1985) diseñan un ensayo en el que pretenden estudiar los efectos sobre la fijación de  $^{14}\text{CO}_2$  y distribución de  $^{14}\text{C}$  y, los efectos de la inoculación individual y doble de la soja con sus dos microsimbiontes. Como controles utilizan plantas compensadas con fertilizantes químicos, N y P. Encuentran que, a las seis semanas de crecimiento, los nódulos en plantas micorrizadas habían consumido el 12% del fotosintetizado mientras que la propia micorriza había utilizado un 17%. Sin embargo, este gasto de fotosintetizados se compensó porque las plantas doblemente simbióticas habían incrementado su ritmo de fijación de  $^{14}\text{CO}_2$  en un 47% con respecto a los controles

no simbióticos. El área foliar específica (área foliar/peso seco foliar) aumentó en un 24% en plantas con ambos simbioses, mientras que el contenido en almidón de las hojas en las plantas noduladas y micorrizas había descendido en un 50%.

Estos hechos los interpretan los autores como una adaptación de las plantas de soja para satisfacer los requerimientos de los dos microsimbioses.

Para discutir sus resultados Harris et al. (1985) comparan algunos aspectos de lo que ocurre a plantas noduladas y fertilizadas con fosfato, con plantas noduladas y micorrizadas. En el caso de las plantas fertilizadas con P, el área foliar específica incrementó, mientras que la masa foliar se reducía, de manera tal que la relación global área foliar a peso seco de la planta no cambió. Por lo tanto, en estas plantas los incrementos en asimilación de C se deben solamente a un incremento en la fijación de  $^{14}\text{CO}_2$  por unidad de superficie foliar, lo cual se produjo sin que cambiara la concentración de fósforo o nitrógeno ni los productos de reserva.

Herold (1980) propuso que, en plantas compensadas con fertilizantes, la asimilación de C puede estar limitada por un acumulo de productos finales de la fotosíntesis; por ejemplo puede acumularse sacarosa-6-P lo cual retiene el fosfato en fracciones inactivas y se reduce el intercambio del nutriente a través de las membranas del cloroplasto. Una bajada en la concentración de fosfato en el cloroplasto puede afectar también al ciclo de reducción



de C al afectarse la relación ADP/ATP en el estroma.

Otra situación colateral es que el almidón, se acumule en los cloroplastos lo que conlleva a que decrezcan las tasas de fotosíntesis.

En contraste, en plantas noduladas y micorrizadas el incremento en área foliar no fué equilibrado por una reducción relativa de la masa foliar. Por ello la relación entre área foliar y peso seco de la planta incrementó, por lo cual la asimilación de C se vió afectada tanto por el incremento en área foliar como por los ritmos relativos de fijación de C por unidad de superficie, que fueron superiores en estas plantas micorrizadas y noduladas que en los controles.

La movilización del almidón y el incremento en los ritmos de asimilación de C en plantas noduladas y micorrizadas que encontraron, Harris et al. (1985), así como las altas concentraciones de P en estas plantas, están de acuerdo con la hipótesis, de que las concentraciones de P en hoja son importantes para controlar la asimilación y translocación de C (Priess, 1984).

Es obvio que las relaciones "fuente-sumidero" de C están implicadas en el contexto de las adaptaciones que la soja desarrolla para satisfacer la demanda de sus endofitos microbianos. En relación con esto hay que referirse al trabajo de Koch y Johnson (1984) que utilizan un sistema de raíz compartida; una parte micorrizada y

otra no. Estos autores encuentran que a pesar de que la concentración de P(%) fué similar en ambas partes de la raíz; a la parte micorrizada se dirigió más del doble del  $^{14}\text{C}$  fotosintetizado. Estos resultados indican que la "fuerza del sumidero" (raíz micorrizada) puede afectar el modelo de distribución de C desde la fuente (hojas) independientemente de los efectos debidos al P o la "fuerza de la fuente".

De todas formas, sigue siendo la planta quien dirige a sus endosimbiontes durante las distintas etapas de su desarrollo. Se ha demostrado un cese en la fase de crecimiento rápido de *Glomus fasciculatum* después que se formaron las estructuras vegetativas de la soja, coincidentes con el inicio del desarrollo de las vainas (Bethlenfalvay et al, 1982). Además, parece ser que los requerimientos de N por el *Bradyrhizobium* y de fósforo por la micorriza, primero pueden ser "comunicados" a la planta y luego a su otro endofito (Brown y Bethlenfalway, 1986).

### 3.5 Interacciones entre endofitos.

Los endofitos micorrícicos difieren en su forma de acción y desarrollo. Esto junto con la gran diversidad de factores ambientales que afectan a la simbiosis hace difícil establecer criterios válidos de selección, sin embargo es posible establecer ensayos donde, para una serie de condiciones de crecimiento pre-establecidas, se ponga de manifiesto el grado de efectividad de los mismos.

Se conoce que la biomasa fúngica intraradical es diferente para las especies de HMAV. En soja inoculada con *G. mosseae* y *G. fasciculatum*, se determinó un incremento de biomasa de  $7,4 \text{ mgd}^{-1}$  y de  $10,8 \text{ mg d}^{-1}$  respectivamente. El peso seco, las áreas foliares y el estado de desarrollo de las plantas inoculadas fué similar y comparable con el de plantas fertilizadas con 0,2 y 1,9 mM de  $\text{K H}_2\text{PO}_4$  para cada hongo respectivamente. (Pacovsky y Fuller, 1986). Esto indicaría una mayor eficiencia en la relación micotrófica por parte de *G. fasciculatum*.

Esta respuesta diferente también puede tener origen en la cantidad de inóculo que se utilice, por ejemplo se ha encontrado mayor respuesta en la planta cuando se aumenta el número de esporas en la inoculación (Antunes et al., 1987). Este mismo resultado ha sido observado para otras leguminosas (Daft y El-Ghiami, 1974). Tal vez este efecto sea debido a que se aumenta la probabilidad inicial de colonización y la simbiosis puede, entonces, funcionar en forma extensiva en todo el sistema radical desde el inicio del crecimiento de la planta.

Esta eficiencia puede ser modificada por efecto del establecimiento de su co-simbionte, el *Bradyrhizobium*, a pesar de que algunas descripciones no indiquen variaciones en cuanto al efecto de la bacteria sobre el porcentaje de colonización micorrícica (Badr El-Din y Moawad, 1988). Puede ocurrir que otros efectos, además de la longitud de la raíz micorrizada, sean los que se manifiesten. Otros autores señalan, en cambio, aumentos en la colonización micorrícica y en el número de vesículas luego de la

formación de los nódulos (Pacovsky et al, 1986). También se ha mencionado que la extensión de la colonización del HMAV en las raíces de la soja, depende del tiempo que transcurre hasta la inoculación con el segundo microsimbionte (Brown y Bethlenfalvay, 1986). La inoculación temprana con el HMAV produjo un mayor nivel de colonización radical que la inoculación a los 20 días desde la siembra de la soja. También dentro de esta experiencia de interacción entre los dos endofitos, la inoculación temprana con *Bradyrhizobium* fue más inhibitoria que cuando se lo inoculó a los 20 días. A pesar de que estos autores señalan que cada simbiote creció mejor en ausencia del otro, no presentan ningún tipo de interacción negativa en el desarrollo de los endofitos que no puedan ser explicados por los tratamientos previos con nutrientes.

También las cepas de *Bradyrhizobium* muestran diferencias en su comportamiento, fundamentalmente en el almacenamiento de fosfato y en su utilización (Cassman et al, 1981).

Se ha descrito (Harris et al. , 1985) que las micorrizas aumentan la cantidad de  $N_2$  fijada por la soja mediante la estimulación del desarrollo de los nódulos sin que se afecte la actividad nitrogenasa ni la respiración nodular específica. Los autores indican que un cierto número de interacciones de los microsimbiontes de la soja son mediados por la planta.

Es obvio que para aumentar los rendimientos en la soja, es necesario conseguir la combinación óptima de HMAV

y *Bradyrhizobium* y para esto es necesario manejar estratégicamente la inoculación dual, seleccionando los pares de microsimbiontes para cada condición de crecimiento de las plantas.

### 3.6 Influencia del suelo.

Sin bien las micorrizas son abundantes en suelos muy fértiles como en suelos pobres (Hayman, 1982) las características edáficas van a afectar indirectamente, por sus efectos inhibitorios o estimulantes de la micorrización de huésped. Aunque, Mosse (1972) señala que los efectos variables de los endofitos pueden estar más determinados por su interacción con el suelo que con la planta huésped, existe información de que la soja "prefiere" mas unos endofitos que otros (Azcón-Aguilar et al., 1986 b).

Concretamente la planta compatibilizó más con un tipo de *Glomus fasciculatum* que con *Glomus mosseae* en un suelo neutro-alcalino, cuando ese pH del suelo se sabe que favorece más al último endofito. La gran variación del número de esporas de HMAV y del grado de colonización entre diferentes tipos de suelos, a menudo son explicadas en base a las propiedades físico-químicas de dichos suelos Badr El-Din y Moawad (1988) sugieren que, las condiciones del suelo que favorecen el desarrollo del *Bradyrhizobium* también incrementan la colonización micorrícica y la producción de esporas.

Evidentemente una selección apropiada de especies de HMAV tanto con respecto a las características del suelo como con el cultivar parece ser necesaria para el aumento en el rendimiento de la soja (Bethlenfalvay et al, 1982; Cardoso, 1986).

## MATERIALES Y METODOS

## MATERIALES Y METODOS.

### A. PARTE GENERAL.

#### 1- MICROORGANISMOS.

##### 1.1. Hongos micorrizógenos arbusculo-vesiculares (HMAV).

##### 1.1.1. Especies fúngicas y su procedencia.

Los hongos utilizados y su procedencia son los que siguen:

*Acaulospora laevis*. Gerd. y Trappe. Procedencia, Dijón, INRA, Francia.

*Glomus caledonium*. (Nicol. y Gerd.) Trappe y Gerd. comb. nov. Procedencia, Dijón, INRA, Francia.

*Glomus epigaeum*. Daniels y Trappe. Procedencia, B. Daniels, E.U.A.

*Glomus fasciculatum*. (E3) (Thaxt. sensu Gerd.) Gerd. y Trappe. Procedencia Dijón, INRA, Francia.

*Gigaspora margarita*. Becker y Hall- Procedencia, Dijón,



INRA, Francia.

*Glomus mosseae*. (Nicol. y Gerd.) Gerd. y Trappe.

Procedencia Estación Experimental de Rothamsted,  
Inglaterra.

#### 1.1.2. Aislamiento y cuantificación de esporas de HMVA.

Las esporas fúngicas se aislaron siguiendo la metodología básica del tamizado húmedo y decantación descrita por Gerdemann y Nicolson (1963) y una modificación, según la técnica de separación y flotación (González, 1980). Cuando se trata de recuperación de esporas a partir de inoculantes se toman entre 50 y 100 ml de estos preparados y se las suspende en agua corriente (1 litro aproximadamente) en un frasco de erlenmeyer, al cual se le incorpora un imán y se lo agita por inducción magnética durante unos minutos, hasta la desaparición de grumos. A continuación se pasa dicha suspensión por una serie de tamices de diferente apertura de malla (53, 125, 250 y 400  $\mu\text{m}$ ). El material retenido en cada tamiz puede decantarse en ampollas "ad-hoc" para separar los restos de materia orgánica y material pesado no deseable de las esporas que, por sus características químicas constitutivas, flotan y se adhieren a las paredes de la ampolla. Después, por sucesivos lavados con agua corriente sobre un embudo Büchner provisto de un papel de filtro Whatman (Nro 1) las esporas quedan distribuidas, sobre el mencionado papel, y pueden reconocerse bajo el microscopio estereoscópico e incluso ser recogidas mediante un pincel

o pipeta Pasteur para ser observadas bajo el microscopio óptico.

En los casos de muestreos en campo para el estudio de población nativa se tomaron muestras de suelo adyacente a las plantas en observación, o simplemente, del suelo objeto de estudio, a una profundidad entre 4-10 cm. Luego, se procedió como se describió anteriormente. Las esporas así aisladas pueden utilizarse inmediatamente o ser guardadas apoyando el papel sobre algodón humedecido con agua, a 4-10 °C.

### 1.1.3. Desinfección superficial de esporas y germinación.

Las esporas aisladas se traspasaron a un filtro de "Millipore" y fueron cubiertas con solución desinfectante estéril la cual se renovó durante el transcurso de 25 minutos hasta agotar la cantidad de 100 ml. luego se lavó reiteradamente con agua estéril.

#### Solución desinfectante

Cloramina T\*.....2 g.  
Estreptomina.....20 mg.  
Tween 80.....0,02 ml.  
Agua destilada.....100 ml.

\* La cloramina T por las características volátiles del cloro activo debe agregarse en el momento de la desinfección.

Para la germinación las esporas desinfectadas se

siembran en agar-agua al 1% y se incuban a 28°C.

#### 1.1.4. Multiplicación de HMAV.

Debido a su condición de endosimbiontes obligados, estos hongos, requieren, para completar su ciclo de vida, de la planta hospedadora viva. Así es que, para conseguir cantidades apreciables de HMAV que pudieran ser usados como inóculos, las esporas aisladas o los inoculantes que provenían de laboratorios de referencia debieron propagarse en sistemas "in vivo". Para ésto se requirieron mezclas de suelo y arena (relación volumétrica 5:2) estériles.

El suelo estéril se repartió en macetas también estériles. En un hoyo realizado con una varilla de vidrio esterilizada, se introdujo el inóculo a propagar en cantidades pequeñas, generalmente menos de 5 ml por maceta. Encima de él se colocó una o varias semillas de la planta hospedadora desinfectadas. Este material se cultivó en condiciones de invernadero o cámara de crecimiento durante 4-12 meses. Fué imprescindible usar suelos con baja disponibilidad de fósforo (menos de 10 ppm) para promover la micotrofia y favorecer la colonización micorrícica. Semanalmente se regó con solución nutritiva carente de fósforo y a diario, con agua corriente. Las condiciones de luz, temperatura y humedad, se regularon de acuerdo a los requerimientos de la planta hospedadora.

#### 1.1.5. Tinción diferencial de las estructuras fúngicas.

Las raíces de las plantas, frescas o secadas a 60° C, se cortaron en trozos de 1 cm aproximadamente. Se colocaron en frascos de plástico resistentes al calor agujereados en su base y se sometieron al método de tinción propuesto por Phillips y Hayman (1970), con ligeras variaciones según las características pigmentarias de las raíces. El tratamiento consistió básicamente en:

- Sumergir los frascos en un recipiente conteniendo KOH al 10% durante 1 hora al baño maría. Las raíces durante el transcurso del tiempo van eliminando los pigmentos y se clarifican.
- Retirar los frascos de la potasa y lavar con agua destilada hasta que ya no queden vestigios de la base.
- Si las raíces no quedan transparentes, como ocurre con sorgo, soja, etc. Se sumergen en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 10% (v/v) durante 10-30 min.
- Acidificar con HCl 0.1 N durante unos minutos.
- Sumergir los frascos con las raíces en una solución de azul de tripano en glicerol (0,01% para raíces muy transparentes y 0,05% para raíces más gruesas). De esta forma se tiñen diferencialmente las estructuras fúngicas y la raíz permanece incolora, excepto los núcleos celulares y los vasos xilemáticos y floemáticos.
- Eliminar el exceso de colorante y conservar en glicerol para su observación microscópica.

#### 1.1.6. Cuantificación de la colonización micorrícica.

Sólo puede llevarse a cabo con raíces previamente teñidas. Se siguió la técnica de intersección de líneas propuesta por Giovannetti y Mosse (1980). Básicamente consiste en disponer una muestra al azar de raíces teñidas (1-1,5g de raíz fresca) sobre una cuadrícula transparente de acrílico que posee divisiones de 1,27 cm por 1,27 cm. Se observan al microscopio las intersecciones, anotando todas aquellas donde haya colonización micorrícica. Se aconseja recorrer unas 200 intersecciones. Para calcular la longitud de raíz colonizada, se aplica la siguiente fórmula matemática:

$$R = \pi \cdot A \cdot N / 2 \cdot H,$$
 donde R= longitud de la raíz dispuesta sobre la cuadrícula, H= longitud de líneas horizontales y verticales,  $\pi$  = constante (3,1416), A= área de cuadrícula y N= número de intersecciones.

Cuando el valor N es el número de intersecciones donde hay estructuras fúngicas (Nc) el valor que da R pasa a ser la longitud de raíz que está colonizada por el hongo (Rc) y, por una regla de tres simple se puede calcular el porcentaje de micorrización asignándole al R total un valor de 100% de longitud de raíz observada y cuantificada.

#### 1.1.7. Enumeración de propágulos micorrizógenos.

Se siguió la técnica de determinación del número más

probable (Powell, 1980) que consiste en disponer en una serie de tubos de 3 cm de diámetro por 20 cm de largo, una mezcla de suelo y arena (relación volumétrica 5:2) hasta los 8-9 cm de altura, esterilizados por tindalización y tapados con algodón. Las muestras de suelo en estudio se diluyen con suelo estéril. Generalmente se utilizan diluciones seriadas desde  $10^{-2}$  hasta  $10^{-6}$  y 5 repeticiones por dilución. Se toman 0.2 ml de cada dilución y se incorporan a la mezcla estéril. Se adicionan aproximadamente entre 5 y 7 ml de agua estéril, y se siembran las semillas, desinfectadas previamente, de la planta susceptible de ser micorrizada (no más de 2 semillas por tubo). Después se incuban durante 15-30 días, tiempo en el cual las plantas crecen en condiciones de luz y temperaturas aptas para la especie vegetal. Al cabo de ese tiempo, se recuperan las raíces y se tiñen como se mencionó en el apartado 1.1.5. de esta sección. Se observan al microscopio estereoscópico y se indica para cada tubo de cada dilución si las plantas están micorrizadas. Después se calcula el número más probable de propágulos micorrícicos aplicando las tablas de Mac Grady (Pochon y Tardieux , 1959).

## 1.2. Bacterias.

### 1.2.1. Especies bacterianas y su procedencia.

Las especies utilizadas y su procedencia son las siguientes:

*Bradyrhizobium japonicum* cepas E45, E97, E104, E109 y E110. Provenientes de la colección de cepas del Instituto

de Microbiología del INTA Castelar.

*Bradyrhizobium japonicum* cepa USDA 106. Proveniente del Departamento de Microbiología de la Estación Experimental del Zaidín.

*Rhizobium meliloti* cepa 203. Proveniente del Departamento de Microbiología de la Estación Experimental del Zaidín.

*Rhizobium meliloti* cepas B58 y B323. Provenientes del Instituto de Microbiología del INTA de Castelar.

### 1.2.1. Medios de cultivo.

Se utilizó el medio 79 (Allen, 1957) para la multiplicación y conservación de las bacterias.

#### Medio 79 de Allen

K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	0,6 g.
Mg SO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O.....	0,2 g.
Ca CO <sub>3</sub> .....	1,0 g.
Ca Cl <sub>2</sub> .....	0,2 g. (1)
Na Cl.....	0,2 g.
Manitol.....	7,6 g.
Glucosa.....	2,4 g.
Extracto de levadura al 1%.....	260 ml. (2)
Agua.....	740 ml.

pH = 7,0 - 7,5

(1) El medio original no incluye Ca Cl<sub>2</sub>.

(2) Se hierven 250 g. de levadura de panadería en 2 litros de agua y se mantienen 3 h. Después se filtra para incorporarlo al medio.

Esterilización en autoclave a 115°C durante 20

minutos. El medio sólido de mantenimiento incluye 15 g L<sup>-1</sup> de agar.

#### 11.2.2. Enumeración de Rhizobium. (infectividad)

Se utilizó la misma metodología descrita para los HMAV en el apartado 1.1.7. del número más probable.

Sólo que en este caso, al término del período de crecimiento de las plantas se observó para todos los tubos que componían las distintas diluciones, la presencia o ausencia de nódulos en las raíces. La técnica pudo también realizarse para ambos microorganismos a la vez ya que los nódulos se observan a simple vista primero y luego se tiñen las raíces para determinar la colonización micorrícica.

## 2. PLANTAS.

Las especies vegetales utilizadas fueron las siguientes:

*Glycine max.* (L) Merr cvs Bragg, Hardee, Hood 75 y Williams.

*Medicago sativa* (L) cv CUF 101- Procedente del INTA, Marcos Juárez.

*Sorghum vulgare* var Leoti Red. Procedente del INTA Pergamino.

*Zea mays.* Procedente del INTA Castelar.

*Allium cepa.* Procedente del INTA La Consulta, Mendoza.

Estas tres últimas plantas se emplean para la obtención de



inóculos de MAV.

### 2.1 Desinfección superficial del tegumento seminal.

En el caso de *Allium cepa* cuyas semillas presentan muchos intersticios, se desinfectaron con un producto comercial denominado Tego 51, que es una solución detergente cuya composición química se basa en anfolitos tensioactivos. Este compuesto fué preparado al 2% con agua destilada, las semillas se cubrieron con el líquido y se agitaron durante 5 minutos. Después se lavaron abundantemente con agua destilada estéril hasta que el agua de lavado, dejó de formar espuma. Este mismo sistema se utilizó para *Zea mays*.

Las semillas de *Medicago sativa* se desinfectaron primeramente con alcohol de 95°C durante 2 segundos, se eliminó el alcohol y se sumergieron en bicloruro de mercurio al 0,1% durante 15 minutos. Pasado este tiempo se eliminó el bicloruro y se agregó una solución de sulfato de amonio al 0.1% para precipitar los restos de mercurio que pudieran quedar en suspensión y posteriormente inhibir las actividades de los microorganismos. Luego se lavó (10-15 veces) con agua estéril y se dejaron las semillas en agua durante unas 2 horas para que absorvieran el agua y se favoreciera su posterior germinación.

Las semillas de *Glycine max* se desinfectaron con bicloruro de mercurio al 0.025% durante 5 minutos y luego se lavaron 10 veces con agua destilada estéril.

El tegumento seminal de *Sorgum vulgare* se desinfectó con una solución al 1% de hipoclorito de sodio durante 5 minutos y después las semillas se lavaron con agua estéril unas 5 ó 10 veces

## 2.2. Germinación de semillas.

Después de la desinfección, las semillas se colocaron en cajas de petri, provistas de papel de filtro y una película de gasa y algodón estériles. Se humedecieron inicialmente con 8 ml de agua destilada y se incubaron a 28°C hasta que emergieron las radículas, reponiendo el agua cuando ésta se evaporaba.

## 3. SOLUCIONES NUTRITIVAS.

En los ensayos de invernadero se utilizaron soluciones nutritivas de diversos tipos, según se detallan en puntos subsiguientes, para incorporar nutrientes necesarios para el crecimiento de las plantas.

Solución nutritiva de Hewitt (1952)

Nutrientes	g 10ml <sup>-1</sup>	ml L <sup>-1</sup> de solución			
		carente de N y P	sin N	sin P	con N y P
KNO <sub>3</sub>	3.03	—	—	10	10
Ca (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	7.08	—	—	20	20
Mg SO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1.84	20	20	20	20
Fe-EDTA	0.25	10	10	10	10
Mn SO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0.223	1	1	1	1
Cu SO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	0.24	0.1	0.1	0.1	0.1
Zn SO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.29	0.1	0.1	0.1	0.1
BO <sub>3</sub> H	1.86	0,1	0.1	0.1	0.1
NH <sub>4</sub> MO <sub>4</sub>	0.035	0.1	0.1	0.1	0.1
Na PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	2.08	—	10	—	10
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	3.03	10	10	—	—
Ca Cl <sub>2</sub>	4.75	20	20	—	—

Solución nutritiva de Mosse y Thompson (1984)

Nutrientes	mg L <sup>-1</sup>
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	435
Mg SO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O.....	490
Ca (H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O.....	126
Ca SO <sub>4</sub> .....	272
Fe Na EDTA.....	18.3
Mn Cl <sub>2</sub> 4H <sub>2</sub> O.....	1.81
BO <sub>3</sub> H.....	2.86
Cu SO <sub>4</sub> . 5H <sub>2</sub> O.....	0.08
Zn SO <sub>4</sub> . 7H <sub>2</sub> O.....	0.22
Na <sub>2</sub> Mo O <sub>4</sub> . 3H <sub>2</sub> O.....	0.027

4- SUELOS.

Las características analíticas se resumen debajo:

Lugar	textura	pH	M.O. (%)	N-t (%)	P disponi- ble(ppm)
E.E.A. Misiones (Misiones)	arcillo- limoso	5,1-5.2	2.76	0,198	<1*
Sub-A.E.R. Gov. Virasoro (Corrientes)	franco- limoso	4,6-4,7	3,41	0.159	<1*
A.E.R. Santo Tomé (Corrientes)	franco- limoso	5	2,25	0,091	<1*
E.E.A. C. del Uruguay (Entre Ríos)	franco- arenoso	3,9-4,2	1,90	0,098	2,0
E.E.A. Concordia (Entre Ríos)	franco- arenoso	3,8-4	1,70	0,092	2,8
Instituto de Microbiología (Castelar)	franco- arcilloso	5,6	1,78	0,193	2,0
9 de Julio (Buenos Aires)	franco- arenoso	6,3	3,79	0,185	10,0
Rojo (Granada)	limo- arcilloso	7,4	1.23	0,091	18,2
Negro (Granada)	limo- arcilloso	7,5	1,28	0,118	15,8

\* Por método de Bray y Kurtz.

Las determinaciones de los siete primeros suelos fueron llevadas a cabo siguiendo las metodologías usuales del Departamento de suelos del INTA Castelar, un tanto que las de los dos últimos suelos se realizaron siguiendo los "Métodos analíticos de la Estación Experimental del Zaidín", salvo la de P- asimilable, para la que se utilizó el método de Olsen et al (1954), que emplea como extractante  $\text{CO}_3 \text{HNa}$  0.5M a pH=8.5.

#### 4.1. Preparación de suelos para ensayos de invernadero.

En numerosas ocasiones, a los fines de realizar ensayos con suelos desprovistos de propágulos micorrícicos activos el suelo recibe un tratamiento especial de tinalización. Previamente, se lo mezcla con arena libre de nutrientes en proporción volumétrica de 5:2. Después, se lo coloca en sacos de lienzo a vapor fluente, durante 3 días consecutivos, a razón de 1h por día.

### B. ENSAYOS ESPECIFICOS.

#### 5. ENSAYOS CON GLYCINE MAX (SOJA).

##### 5.1. Evaluación de la micorrización natural en diferentes áreas productoras de soja de la R. Argentina.

Las observaciones se realizaron en ensayos llevados a cabo por Estaciones Experimentales del INTA. Se

muestrearon los cultivares Bragg, Hardee y Hood en lugares con deficiencias de fósforo asimilable (ver características de los suelos en el apartado 4 de esta sección).

Para determinar la presencia de HMAV, se aislaron las esporas fúngicas presentes en la rizosfera de las plantas. Se tomaron tres sub-muestras por unidad de observación, a 4-8 cm de profundidad, mediante una sonda edáfica y luego se procedió según la técnica de separación y flotación (González, 1980) descrita en el punto 1.1.2.

Para cuantificar la colonización micorrícica, las raíces de las plantas (3 por parcela), se cortaron y se tiñeron para calcular el porcentaje de colonización micorrícica (apartado 1.1.5.)

El estado fenológico de la soja en cada área muestreada, se determinó mediante la aplicación de la clave de Fehr et al (1971).

A los datos de micorrización ( transformados por la función  $\text{arc sen } \sqrt{x}$  ) se les realizó un análisis de la varianza (ANOVA) y luego, por la prueba de Duncan al nivel del 0,05% se determinaron las diferencias entre medias de los distintos cultivares.

## 5.2 Compatibilidad de diferentes combinaciones

### HMAV soja, en función del tipo de suelo.

El primer ensayo se llevó a cabo en la Estación Experimental del Zaidín, para comparar los efectos producidos por diferentes HMAV en la soja, cultivada en dos suelos de Granada; denominados Rojo y Negro (ver apartado 4). Se utilizó el cv Williams y las semillas fueron seleccionadas de acuerdo a sus características morfológicas para mantener la uniformidad. Se desinfectaron y pusieron a germinar como se indicó antes. A los tres días aproximadamente, se transplantaron a macetas de 1 Kg de capacidad que contenían la mezcla estéril de suelo y arena. Después, se inoculó con HMAV a razón de 5 ml de inóculo por maceta (altamente infectivo, 70-80% de colonización promedio, en trozos de raíces tomados al azar). Se utilizaron las siguientes especies fúngicas: *Acaulospora laevis*, *Glomus caledonium* I y II, *Glomus epigaeum* y *Gigaspora margarita*. Todas las plantas recibieron inóculo de *Bradyrhizobium japonicum* cepa USDA 106.

Las plantas se mantuvieron en condiciones de invernadero con 16h de luz diarias a una temperatura entre 15-38°C de fluctuación noche-día. Se regaron a diario con agua corriente y cada semana se les adicionó solución nutritiva de Hewitt diluída al 25% (exenta de P y N).

Al término del ensayo, (14 semanas) se cosecharon las plantas. Los tallos y hojas se separaron para ser secados a 60°C y se les determinó el peso seco y contenido en N, P

y K según los "métodos analíticos de la Estación Experimental del Zaidín". Los frutos (vainas ) se separaron y contaron. Las raíces se lavaron intensamente con agua corriente, los nódulos se extrajeron, se contaron y pesaron luego de un secado que al igual que el de las otras partes del vegetal fué a 60°C. Una vez secas, las raíces se tiñieron y les fué cuantificada la colonización micorrícica como se indicó en los apartados 1.1.5 y 1.1.6.

El ensayo tuvo un diseño completamente aleatorizado con 2 tratamientos principales. 1) Suelo Negro 2) Suelo Rojo y 5 subtratamientos (cada uno de los HMAV citados). Había 5 repeticiones por tratamiento. Para cada variable estudiada se realizó una comparación global entre las medias obtenidas en cada suelo y luego se hizo otro ANOVA para los subtratamientos dentro de cada tratamiento (suelo) . Las significancias de las diferencias entre las medias fueron calculadas aplicando la prueba de Duncan al 0.05% .

El segundo ensayo, básicamente, fué igual al primero en cuanto a preparación y mantenimiento. Se mencionarán las principales diferencias. Se llevó a cabo en el Instituto de Microbiología del INTA Castelar, con el suelo de Castelar señalado en el ítem 4 de esta sección. Se utilizó el cv. Hood 75 y los siguientes HMVA: *Glomus epigaeum*, *G. fasciculatum* y *G. mosseae*. También se incluyó un control inoculado sólo con *Bradyrhizobium* cepa E 110 y 10 ml de un filtrado de suelo sin HMAV.

Las plantas cultivadas en macetas de mayor capacidad



(2 Kg) , se cosecharon a las 12 semanas, en floración, razón por la cual se apreciaron valores de peso seco mayores respecto a los ensayos en el Zaidín que se cosecharon a las 14 semanas en fructificación.

El ensayo se distribuyó también completamente al azar pero constaba de 4 tratamientos (HMAV usados y control) y 6 repeticiones para cada uno.

También se realizó un ANOVA y se aplicó la prueba de Duncan al 0,05%.

### 5.3 Dependencia micorrícica de la soja en los suelos estudiados.

En vista de los resultados obtenidos con los dos suelos de Granada, se escogió el suelo Negro para estudiar la respuesta de la soja a la micorrización y a la fertilización fosfatada. El montaje y las evaluaciones del ensayo fueron similares a las descritas en la sección 5.2 anterior, sólo que la mezcla de suelo y arena fué adicionada con 0, 50, 100, 200 y 300 mg de  $K_2HPO_4$  que resultaron, luego de las determinaciones químicas de cada mezcla, en 5.99, 16.18, 17.98, 20.97 y 26.87 ppm de  $P_2 O_5$  respectivamente. Se utilizaron los hongos *Glomus epigaeum* y *G. mosseae*. y un control sin HMAV pero con 10 ml por maceta de filtrado de suelo libre de hongos.

El diseño fué bloques completamente al azar, con un arreglo de los factores en parcelas divididas, siendo el

tratamiento la presencia o ausencia de HMAV y el subtratamiento cada uno se los cinco niveles de fósforo.

Para el análisis estadístico, en una primer etapa se graficaron y analizaron los residuales (Draper y Smith, 1981).

No detectándose violaciones en los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas para la mayoría de las variables, excepto para micorrización a la cual se le hizo una transformación ( $\text{arc sen } \sqrt{x}$ ). Posteriormente se realizaron ANOVA para cada variable por separado para ver los efectos en forma global y luego pormenorizando en los distintos tratamientos y subtratamientos. Las significancias entre las medias se hicieron mediante la prueba de Duncan a un nivel de 0.01%.

El mismo ensayo se llevó a cabo en el Instituto de Microbiología del INTA Castelar, sólo que utilizando el suelo de allí y el cv Hood 75. Los HMAV usados fueron los mismos, la bacteria fué la cepa E110 del INTA Castelar y se disminuyeron los niveles de fósforo, restringiéndolos a 0, 100, 200 y 300 ppm de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ . Las evaluaciones y análisis estadísticos se realizaron igual que en el ensayo homólogo del Zaidín.

#### 5.4. Estudios de interacción entre diferentes cepas de *B. japonicum* y micorrizas nativas.

##### A) En condiciones controladas.

Se tomó suelo del campo Experimental del

Instituto de Microbiología del INTA Castelar, al cual se le corroboró por la determinación del número mas probable (apartado 1.2.2.), la ausencia de población natural de *Bradyrhizobium japonicum*. Se lo mezcló, sin esterilizar, con arena de río lavada y esterilizada (apartado 4.1.), en relación volumétrica 5:2 y se llenaron macetas de 1 Kg esterilizadas previamente. Se utilizó el cv Hood 75 y en el momento de la siembra se distribuyó el inóculo rizobial correspondiente ( $1 \times 10^5$  *Bradyrhizobium* por maceta) suspendido en agua destilada estéril. Las cepas usadas fueron: E45, E97, E104, E109 y E110.

Se mantuvo el ensayo en cámara con fotoperíodo controlado (16 h luz día). El riego, como se mencionó en los ensayos anteriores, sólo que al control sin bacterias se le incluyó solución nutritiva con nitrógeno (apartado 3 de esta sección).

A los 60 días, se hicieron observaciones de nodulación, también se evaluó el peso de tallos y hojas secados a  $105^{\circ}\text{C}$  hasta peso constante. Para el número de esporas y porcentaje de colonización se siguió la metodología señalada anteriormente (1.1.2 y 1.1.6. de esta sección).

El diseño experimental fué completamente aleatorizado con 5 repeticiones por cada tratamiento. Estos fueron: 1- testigo sin inocular, 2-3-4-5 y 6 semillas inoculadas con las cepas de *Bradyrhizobium* ya citadas.

Los datos fueron analizados estadísticamente para cada variable mediante un ANOVA y prueba de Duncan al

0.01%, debiendo transformarse los de porcentaje de micorrización ( $\text{arc sen } \sqrt{x}$  ).

B) En condiciones de campo.

Se llevó a cabo en el campo Experimental de donde provenía el suelo usado en el ítem 5.4. A).

Se usó un diseño de bloques al azar distribuido en parcelas con cinco líneas de 6 m de largo, distanciadas a 0.70m. El cultivar y los tratamientos fueron iguales a los señalados en 5.4.A).

Antes de establecer el cultivo y, después de la cosecha, se obtuvieron muestras de suelo de manera similar a como se lo describió antes en el punto 5.1. y luego se procedió al aislamiento y enumeración de esporas (ítem 1.1.2.). También se extrajeron sistemas radicales (idem 5.1.) y se cuantificó la colonización micorrícica (apartado 1.1.5.).

Para el análisis estadístico se procedió igual que en 5.4. A).

#### 5.5 Estudio de interacciones entre Bradyrhizobium japonicum, Glomus epigaeum y Glycine max.

a) En suelo Negro, Granada.

El ensayo se llevó a cabo en condiciones de invernadero siguiendo básicamente las metodologías descritas en el apartado 5.2 de esta sección. Se usó suelo

Negro, de Granada cuyas características figuran en el punto 4, el cv Williams de la soja y la especie *G. epigaeum* de HMAV.

Los tratamientos realizados fueron los siguientes:

- PN- Testigo, sin *Bradyrhizobium* y sin HMAV, y fertilizado con fósforo (P) y nitrógeno (N).
- PB0- Plantas inoculadas con *Bradyrhizobium*, en el momento de la siembra (B0) y fertilizadas con fósforo.
- PB15- Plantas inoculadas con la bacteria a los 15 días desde la siembra (B15) y, fertilizadas con fósforo.
- GON- Plantas inoculadas con *Glomus epigaeum* en el momento de la siembra (G0) y fertilizadas con nitrógeno (N).
- G15N- Plantas inoculadas con el hongo a los 15 días (G15) y fertilizadas con nitrógeno.
- GOB0- Hongo y bacteria inoculadas en el momento de la siembra.
- GOB15- Hongo inoculado en la siembra y bacteria a los 15 días.
- G15B15- Ambos microorganismos inoculados a los 15 días desde la siembra.

Se utilizó la solución de Hewitt para regar semanalmente las plantas, preparada con N y P, con N solo, con P solo, sin N y sin P (ver apartado 3), según los tratamientos lo requerían.

Este ensayo de 9 tratamientos, se conformó en un arreglo factorial, en un diseño completamente aleatorizado. Se tomaron mediciones de una serie de

variables a lo largo de 6 períodos de evaluación (a los 11, 18, 24, 31, 52, y 67 días desde la siembra). Las mediciones dentro de cada período se efectuaron sobre distintas unidades experimentales (macetas), seleccionadas en forma aleatoria. Se contó con tres factores, el factor Fósforo toma los siguientes niveles citados antes: P, G0 y G15; el factor Nitrógeno: N, B0 y B15 y el factor Evaluaciones: cada uno de los 6 días de muestreo.

Dada la particular características de algunas de las variables bajo análisis o, el hecho de que muchas de ellas son medidas a través del tiempo, pudiendo dar origen a varianzas heterogéneas, se estudió si era necesario acudir a alguna transformación. Para esto se utilizó la metodología propuesta por Box y Cox (1964) y tanto para la variable original como para la transformada se realizó la prueba de Saphiro-Wilks para normalidad, determinándose la eficiencia de la transformación.

Las variables y transformaciones usadas se listan a continuación.

- a) Peso seco de parte aérea -  $\ln x$
- b) Peso seco de raíces -  $(x+1)^{-1}$
- c) Concentración de nitrógeno en parte aérea -  $\ln (x+1)$
- d) " " fósforo " " " -  $\ln x$
- e) " " potasio " " " -  $\ln (x+1)$
- f) Número de nódulos -  $\sqrt{x}$
- g) Número de vainas -  $\ln (x+1)$ .
- h) Micorrización -  $\text{arc sen } \sqrt{x}$

El análisis siguió una serie de etapas consistentes en un ANOVA general para detectar las interacciones que

surgieran entre los factores principales (Fósforo, Nitrógeno y Evaluaciones). En los casos en que hubo interacciones se prosiguió con un análisis dentro de cada nivel de fósforo (P, G0 y G15) y , finalmente se aplicó la prueba de Tukey para establecer la significancia entre las medias a un nivel de 0,01% (Steel y Torrie, 1980).

b) En suelo de Castelar.

La metodología empleada y las variables evaluadas fueron las mismas que para el ensayo 5.5.a). Sólo se varió el suelo empleado que fue el de Castelar, el cultivar de soja que fué el Hood 75 y la especie de *Bradyrhizobium japonicum* que fué la E 110, desde el punto de vista de los materiales empleados. En cuanto a los tiempos de evaluación, de acuerdo a los resultados obtenidos en el 5.5.a) se obtuvieron los datos a los 20, 40, y 60 días.

## 6. ENSAYOS CON MEDICAGO SATIVA (ALFALFA).

### 6.1. Estudios "in vitro" de las interacciones entre *Rhizobium meliloti* y esporas de hongos micorrícicos.

A partir de inóculos puros, se aislaron esporas, se desinfectaron superficialmente y se pusieron a germinar, siguiendo las metodologías descritas en el apartado 1 de esta sección.

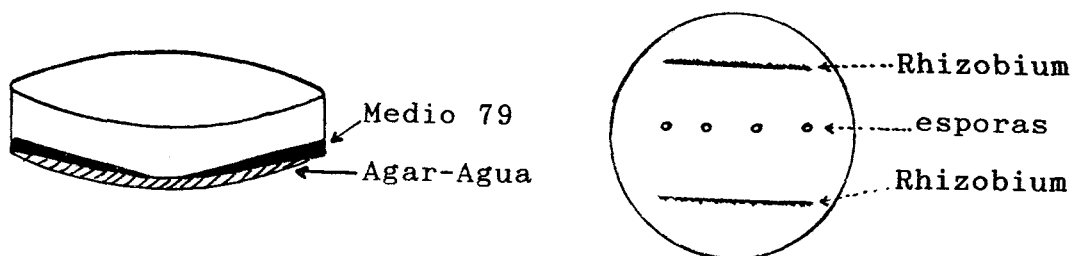
Para determinar su porcentaje de germinación, cada 2 ó 3 días se observaron las cajas bajo el microscopio óptico y se fueron demarcando las esporas que presentaban los

tubos de germinación emergentes y en crecimiento. Después se procedió a distribuir las esporas en cada medio de cultivo usado.

El *Rhizobium meliloti* cepa B 56, se sembró en medio 79 líquido y se incubó en agitación durante 3 días a 28°C.

Los HMAV usados fueron *Glomus caledonium*, *Glomus fasciculatum* y *G. mosseae*.

Los medios de cultivo fueron los siguientes: agar-agua Difco al 1%, el medio 79 de Allen y una combinación de los dos como se muestra en el siguiente dibujo:



A- Vista lateral.

B- Vista de frente.

Se sembraron 4 esporas germinadas por caja alineadas en el centro de la caja y en los casos en que también se sembrara *Rhizobium*, éste fué dispuesto en estría con pipeta Pasteur en dos líneas paralelas a la de siembra de las esporas.

Básicamente los tratamientos fueron las combinaciones que resultaron de emplear los diferentes medios de cultivo sembrados con esporas de cada especie fúngica y *Rhizobium* y sus respectivos controles sin *Rhizobium*.

Se realizaron 2 lecturas de cada tratamiento, la



primera a los 10 días y la segunda a los 20 días aproximadamente. En cada una de ellas se contó el número de vesículas secundarias formadas y el diámetro del crecimiento del micelio vegetativo. A los datos obtenidos se les realizó el cálculo de la mínima diferencia significativa al 0,05% (Snedecor, 1964).

## 6.2. Preparación de inoculantes de micorrizas para alfalfa.

Primeramente, a modo de prueba, se prepararon los "pellets" basándose en la fórmula base citada por Hayman (1986) pero incorporándose ligeras variaciones en cuanto a cantidad de semillas, adición o no, de turba molida y diámetro y longitud de los "pellets". Los ingredientes básicos fueron:

- inóculo de micorriza
- sulfato de calcio
- inóculo de Rhizobium.

Una vez realizada la mezcla y conseguida la humedad adecuada se pasó por el orificio de un dispositivo comunmente utilizado para homogeneizar la mezcla y obtener los "pellets" del diámetro buscado (5 u 8mm). Luego se seleccionaron y se pusieron a 25°C para que adoptaran consistencia. Para corroborar que este proceso no afectará la germinación de las semillas éstas se extrajeron de los "pellets" por lavado bajo grifo sobre un tamiz y se pusieron a germinar en cajas de petri sobre papel y algodón humedecido a 28°C durante 10 días.

Los "pellets" enteros, se sembraron en macetas que contenían una mezcla de suelo y arena y las plantas que emergieron se mantuvieron durante 4 meses en condiciones de invernadero.

Al cabo de ese tiempo se contó el número de plantas nacidas por "pellets" y la colonización micorrícica usando la metodología descrita en 1.1.5. y 1.1.6.

Posteriormente, se realizaron tres nuevos formulados.

#### FORMULADOS

Ingredientes	A	B	C
Inóculo de micorriza (ml)	900	700	500
Turba(ml)	100	300	500
Sulfato de calcio (ml)	300	300	300
Semillas de M. sativa (g)	6	6	6
Inóculo de R. melioli (ml)	c.s.	c.s.	c.s.

Los "pellets" así preparados se sembraron en recipientes de plástico de 45 cm x 20cm, en condiciones de invernadero, durante 4 meses y al término se evaluó el peso seco de parte aérea por pellets y por planta, como así también el porcentaje de raíz colonizada (técnica citada en 1.1.2.). A los datos obtenidos se les hizo la prueba de Duncan para establecer las significancias entre las medidas a un nivel  $p=0,05$ .

### 6.3. Ensayo experimental en condiciones de campo con aplicación de "pellets".

El próximo paso fué sembrar los pellets en microparcelas experimentales. Para ello se escogió, por los resultados antes obtenidos, el formulado B y se incluyeron dos especies de HMAV: *Glomus fasciculatum* y *G. mosseae*, también se preparó un control con suelo estéril.

La siembra se realizó manualmente incorporando los "pellets" a una distancia de 10 cm entre sí, en parcelitas de 0.50 m x 0,50 m, separadas a 0.50 m.

Se realizaron 4 cortes del forraje, el primero a los 3 meses desde la siembra y los otros mensualmente. Se determinó la cantidad de materia seca secando a 60°C y se hicieron determinaciones de concentración de N, P y K siguiendo las metodologías de la estación experimental del Zaidín. El diseño experimental fué de parcelas divididas con bloques completos al azar y los datos fueron analizados aplicando la prueba de Tukey al 0,01%.

### 6.4. Preparación de "pellets" aplicados en suelos ácidos.

Se prepararon 4 formulados con agregado de carbonato de calcio en diversas proporciones a los fines de proporcionar un pH neutro y estable. Los componentes fueron los siguientes:

## FORMULADOS

Ingredientes	D	E	F	G
Inóculo de micorriza (ml)	175	175	175	175
Turba (ml)	75	75	75	75
Sulfato de calcio (ml)	50	50	50	50
Carbonato de calcio (ml)	5	15	25	35
Semillas de <i>M. sativa</i> (g)	2	2	2	2
Inóculo de <i>R. Meliloti</i> (ml)	40	40	40	40

Los "pellets" se sembraron en recipientes de 30 cm de diámetro que contenían una mezcla, de suelo de Castelar y arena estériles y se mantuvieron en cámara de luces con riegos periódicos con agua corriente durante 4 meses. Parte de los "pellets" se llevaron al laboratorio para determinarles el pH (2 partes de agua y 1 de "pellet" disuelto en ella).

Al término de la experiencia se calculó el número de plantas por "pellet" y el porcentaje de colonización micorrícica como así también la nodulación siguiendo una escala arbitraria (nula, escasa, buena, y excelente).

Se escogió, por los resultados obtenidos el formulado F para ser probado en microparcels en el campo Experimental del INTA Castelar. Se sembraron 4 parcelas con 25 "pellets" en cada una, distanciados a 10 cm entre sí. Al cabo de 3 meses se contó el número de "pellets" con plantas sobre el total sembrados y el porcentaje de

colonización micorrícica.

6.5. Aplicación experimental de "pellets" en dos localidades de Buenos Aires, R. Argentina.

Se realizaron dos ensayos paralelos en condiciones de campo. Uno en la localidad de 9 de Julio, en la estancia "La Norumbega" a unos 300 Km de la Capital Federal y el otro en el Campo Experimental del Instituto de Microbiología del INTA Castelar, distante a 30 Km al oeste de la Capital.

Los tratamientos para Castelar se basaron en el formulado F, citado en el apartado 6.4. de esta sección y contenían además los siguientes inóculos: 1- *Glomus epigaeum*, 2- *G. mosseae* 3- *Rhizobium meliloti* cepas B232 y B58, 4- *G. epigaeum* + *R. meliloti*, 5- *G. mosseae* + *R. meliloti* y 6- Control con suelo estéril.

Los tratamientos para 9 de Julio fueron similares sólo que en lugar de emplear *G. mosseae*, se incorporó *G. fasciculatum* para los trataminetos 2 y 5.

Se llevaron muestras de "pellets" al laboratorio para calcular el número de semillas germinadas por "pellet" y el pH.

Se prepararon parcelas de 1.60 m de ancho y 1.50 m de longitud, con 9 líneas de siembra, separadas a 0.20 m. Se sembraron 2 líneas a cada lado con semilla sin ningún tratamiento, a chorrillo manual para formar una barrera

que disminuyera el efecto borde. Las líneas centrales se sembraron con los "pellets" distanciados a 10 cm entre sí.

El diseño constó entonces de 6 tratamientos, con 5 repeticiones cada uno distribuido en bloques al azar (total 30 parcelas).

Antes de la siembra se tomaron muestras del predio donde se instalarían los ensayos para calcular el número más probable de *Rhizobium meliloti* y de propágulos de hongos micorrícicos naturales (ver apartados 1.1.7. y 1.2.2. )

Los ensayos se sembraron a fines del mes de marzo, en otoño y hacia fines del mes de julio se iniciaron los cortes de forraje. Este luego se secó a 65°C, se molió y se le determinó la concentración de N, P y K.

A los datos obtenidos se les realizó un ANOVA y luego la prueba de Tukey al 0,01% para evaluar la significancia de las medias.

## 7. OBTENCION DE INOCULOS DE MICORRIZAS.

Se prepararon diferentes medios para la multiplicación de varios HMAV con algunos hospedantes susceptibles de ser micorrizados. Uno de ellos consistió en la típica mezcla suelo y arena; el segundo medio consistió en la misma mezcla anterior pero con adición de turba molida de *Sphagnun* (2 partes de suelo, 2 de arena y

2 turba) y el segundo fué arcilla expandida, también conocida como LECA. Para los dos primeros medios, se utilizó la metodología descrita (en el apartado 1.1.4. de esta sección). En tanto que la arcilla expandida, de un tamaño de partículas entre 6 y 9 mm fué molida levemente para que la porosidad quedara expuesta y favoreciera la penetración posterior de las raicillas de las plantas. A este material, embebido de la solución nutritiva de Mosse y Thompson (1984) diluída al 25% se le determinó la conductividad siendo ésta muy baja, del orden de los 1745  $\mu$ mhos cm También se la pasó por una malla de 2 mm, se hizo una pasta de saturación y luego se obtuvo el extracto de saturación, siendo los datos:

- Resistencia a la pasta = 1761  $\Omega$ cm
- pH de la pasta = 8,1
- Conductividad eléctrica del extracto = 2237  $\mu$ mhos cm

Los 3 medios distribuídos en macetas se inocularon con *Glomus epigaeum*, *G. fasciculatum* y *G. mosseae*, a razón de 5 ml por maceta de inóculo conteniendo entre 50 y 100 esporas y entre 70 y 80% de propágulos infectivos.

Las semillas de las plantas desinfectadas y previamente germinadas (apartados 2.1 y 2.2) se sembraron a unos 2 cm de profundidad por encima del inóculo dispuesto en banda. Las plantas hospedadoras usadas fueron: *Allium cepa*, *Glycine max*, *Sorghum vulgare* y *Zea mays*.

Las plantas se mantuvieron en condiciones de invernadero durante 4 meses y luego se cortó la parte aérea y se dejó en situación de estres hídrico durante 45

días.

Para cada tratamiento se evaluó el peso seco de parte aérea y raíz, el número de esporas y el porcentaje de micorrización.

El análisis estadístico se realizó para cada variable por separado, considerando primero un efecto global sobre los hospedantes, sobre los hongos usados y sobre los tres medios. Después se pormenorizó el análisis para cada HMAV, para cada hospedante y para cada medio en forma individual, determinándose las significancias entre las medias por la aplicación de la prueba de Tukey al 0,01%.



## RESULTADOS

#### IV RESULTADOS

##### A. ENSAYOS CON SOJA.

##### 1. EVALUACION DE LA MICORRIZACION NATURAL EN DIFERENTES AREAS PRODUCTORAS DE SOJA EN LA R. ARGENTINA.

La colonización micorrícica varió en un rango que oscila entre el 44 y el 77%, demostrándose la presencia de micorrizas nativas compatibles con los cultivos de soja más usados en estas áreas (TABLA 1).

Se encontró un porcentaje superior de arbusculos en los estadios reproductivos más avanzados, en tanto que las vesículas se observaron en un mayor porcentaje en los menos avanzados (TABLA 1).

Comparando los tres cultivares, en todas las áreas muestreadas, el Hood tuvo una mayor micorrización estadísticamente significativa (TABLA 2).

TABLA 1

COLONIZACION MICORRICICA DE LOS CULTIVARES DE SOJA

CULTIVAR	LUGAR	ESTADO REPRODUCTIVO	ESTRUCTURAS OBSERVADAS			MICORRIZACION (%)
			H*	A	V	
Bragg	Cerro Azul	5	8	92	0	55
	Gdor.Virasoro	6	16	76	8	44
	Santo Tomé	5	12	89	0	54
	Concordia	2	0	5	96	53
	C.del Uruguay	3	2	17	80	50
Hardee	Cerro Azul	3	5	32	63	54
	Gdor.Virasoro	3	22	11	67	53
	Santo Tomé	4	15	12	74	55
	Concordia	6	3	73	24	60
	C.del Uruguay	5	5	85	11	54
Hood	Cerro Azul	5	15	63	22	55
	Gdor. Virasoro	6	11	69	20	77
	Santo Tomé	5	13	70	17	65
	Concordia	2	2	9	89	68
	C.del Uruguay	3	10	10	82	70

Nota (\*) H= hifas enrolladas; A= arbusculos; V= vesículas

TABLA 2

ANALISIS ESTADISTICO DE LA MICORRIZACION PARA CADA CULTIVAR DE SOJA OBSERVADO.

CULTIVAR	MICORRIZACION	
	(%)	(DT)
Bragg	51	(45.6) b*
Hardee	55	(47.9) b
Hood	67	(54.9) a

DT = Dato Transformado para su análisis estadístico ( $\text{arc sen } \sqrt{x}$ )  
 Nota (\*) Números seguidos de igual letra no difieren significativamente. Prueba de Duncan,  $p = 0.05$

## 2. COMPATIBILIDAD DE DISTINTAS COMBINACIONES HONGO MICORRIZOGENO-SOJA EN FUNCION DEL TIPO DE SUELO.

### 2.1. Experiencias con dos suelos de España.

El análisis estadístico, donde se compararon, para cada una de las variables estudiadas, los efectos generales producidos en los tipos de suelos que dieron origen al medio donde se cultivaron las plantas de soja, puso en evidencia, de manera significativa ( $p=0.05$ ) el efecto estimulante del suelo Negro respecto al Rojo debido a sus diferentes propiedades físico-químicas (ver Materiales y Métodos, apartado 4). Especialmente se observó para la producción de materia seca (TABLA 3), concentración de nitrógeno (TABLA 6), número de vainas (TABLA 9) y producción de nódulos (TABLA 11). Si bien la tendencia fué, que la concentración de fósforo y potasio (TABLA 6), como así también el nivel de colonización micorrícica (TABLA 14), fueran mayores en el suelo Negro, en estas variables no se detectaron significancias. Todos los hongos inoculados tuvieron un efecto semejante sobre la producción de materia seca en el suelo Negro (TABLA 4), pero no ocurrió lo mismo en el suelo Rojo, donde *Glomus epigaeum* y *Acaulospora laevis* produjeron un aumento significativo respecto a los otros hongos inoculados (TABLA 5). La concentración de nitrógeno, presentó efectos más variados y coincidentes con la producción de nódulos (TABLAS 7 Y 12), ya que las plantas con *G. epigaeum* tuvieron mayor porcentaje de nitrógeno y mejor nodulación; comportamiento similar presentaron las plantas inoculadas con *G. caledonium* I. En el suelo Rojo, también existió la

tendencia de una mayor efectividad de *G. epigaeum*, aunque el análisis estadístico no detectó diferencias para nitrógeno y fósforo (TABLA 8). El porcentaje de potasio difirió en el suelo Rojo favoreciéndose las plantas inoculadas con *G. caledonium* II (TABLA 8). La nodulación fué significativamente superior cuando la soja se inoculó con *G. epigaeum* (TABLA 13).

La colonización micorrícica se expresó con igual intensidad en los dos suelos, indicando que, en las condiciones de cultivo empleadas, todos los hongos fueron compatibles con el cultivar Williams utilizado (TABLA 14). Sin embargo, un análisis más detallado de los datos, puso en evidencia una mejor afinidad entre *G. epigaeum* y la soja en el suelo Negro, siguiéndole en comportamiento simbiótico *G. margarita* y *G. caledonium* I, (TABLA 15). En tanto que en el suelo Rojo no hubo diferencias en el grado de colonización (TABLA 16).

## 2.2. Estudio de compatibilidad para el cv Hood 75 usando suelo proveniente de Castelar, provincia de Buenos Aires.

Nuevamente, se utilizó *G. epigaeum* por su comportamiento previo más destacado y también fué el HMAV que más estimuló el crecimiento de la soja (TABLA 17), si bien *G. fasciculatum* produjo un efecto similar tanto en materia seca de tallos y hojas como en la de raíces. El tercer HMAV inoculado no difirió del control sin HMAV pero tuvo una ligera tendencia a estimular el crecimiento como

TABLA 3

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE EL CRECIMIENTO DE GLYCINE MAX (L) MERR CV WILLIAMS EN LOS SUELOS ESTUDIADOS

SUELOS	Peso Seco P.Aerea (g)	Peso Seco Raíz (g)	PSA:PSR
Negro	1.78 a*	0.47 a	0.26 a
Rojo	1.15 b	0.37 b	0.33 a

HMAV= Hongo Micorrícico Arbúsculo-Vesicular.

PSA:PSR= Peso Seco Parte Aérea : Peso Seco Raíz.

Nota (\*) igual que en TABLA 2

TABLA 4

EFFECTO DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE EL CRECIMIENTO DE LA SOJA EN EL SUELO NEGRO.

HMAV	Peso Seco P.Aérea (g)	Peso Seco Raíz (g)	PSA:PSR
A. laevis	1.69 a*	0.41 a	0.25 a
G. caledonium I	1.99 a	0.47 a	0.24 a
G. caledonium II	1.59 a	0.46 a	0.29 a
G. epigaeum	1.84 a	0.54 a	0.30 a
G. margarita	1.77 a	0.47 a	0.24 a

Notas (\*) igual que en TABLA 3.



TABLA 5

EFFECTO DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE EL CRECIMIENTO DE LA SOJA EN SUELO ROJO.

HMAV	Peso Seco P. Aérea (g)	Peso Seco Raíz (g)	PSA:PSR
<i>A. laevis</i>	1.21 ab*	0.36 a	0.30 a
<i>G. caledonium</i> I	1.06 b	0.36 a	0.35 a
<i>G. caledonium</i> II	1.07 b	0.34 a	0.32 a
<i>G. epigaeum</i>	1.37 a	0.41 a	0.30 a
<i>G. margarita</i>	1.05 b	0.42 a	0.40 a

Símbolos y notas (\*) igual que en TABLA 3.

TABLA 6

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA CONCENTRACION DE NUTRIENTES EN LOS DOS SUELOS ESTUDIADOS.

SUELOS	NITROGENO (%)	FOSFORO (%)	POTASIO (%)
Negro	1.35 a*	0.070 a	1.03 a
Rojo	1.14 b	0.065 a	0.94 a

Notas (\*) igual que en TABLA 3.

TABLA 7

EFFECTO DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA CONCENTRACION DE NUTRIENTES, EN SOJA CULTIVADA EN SUELO NEGRO.

HMAV	NITROGENO (%)	FOSFORO (%)	POTASIO (%)
A. laevis	1.21 a*	0.066 a	1.02 b
G. caledonium I	1.43 c	0.074 a	1.05 ab
G. caledonium II	1.30 b	0.068 a	1.03 b
G. epigaeum	1.56 d	0.074 a	1.19 a
G. margarita	1.25 ab	0.068 a	0.86 c

Notas (\*) igual que en TABLA 3

TABLA 8

EFFECTO DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA CONCENTRACION DE NUTRIENTES, EN SOJA CULTIVADA EN SUELO ROJO.

HMAV	NITROGENO (%)	FOSFORO (%)	POTASIO (%)
A. laevis	1.16 a	0.064 a	0.97 b*
G. caledonium I	1.12 a	0.062 a	0.89 bc
G. caledonium II	1.10 a	0.068 a	1.11 a
G. epigaeum	1.21 a	0.068 a	0.94 b
G. margarita	1.11 a	0.064 a	0.81 c

Notas (\*) igual que en TABLA 3

TABLA 9

EFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA PRODUCCION DE  
VAINAS EN SOJA, EN LOS SUELOS ESTUDIADOS

SUELOS	Nro. VAINAS
Negro	5.4 a*
Rojo	1.8 b

Notas (\*) igual que en TABLA 3

TABLA 10

EFFECTO DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA PRODUCCION DE VAINAS  
EN SOJA, EN LOS SUELOS ESTUDIADOS

HMAV	NUMERO DE VAINAS	
	SUELO NEGRO	SUELO ROJO
A. laevis	5 a	1 b
G. caledonium I	6 a	2 b
G. caledonium II	5 a	2 b
G. epigaeum	6 a	2 b
G. margarita	5 a	2 b

Símbolos y notas (\*) igual que en TABLA 3

TABLA 11

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA PRODUCCION DE NODULOS EN SOJA, EN LOS SUELOS ESTUDIADOS

SUELOS	NODULOS	
	NUMERO	PESO (g)
Negro	18.0 a*	0.039 a
Rojo	23.6 a	0.026 b

Notas (\*) igual que en TABLA 3

TABLA 12

EFFECTO DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA PRODUCCION DE NODULOS  
EN SOJA, CULTIVADA EN SUELO NEGRO

HMAV	NODULOS	
	NUMERO	PESO (g)
A. laevis	10 c*	0.026 b
G. caledonium I	20 ab	0.046 ab
G. caledonium II	15 bc	0.024 b
G. epigaeum	25 a	0.064 a
G. margarita	20 ab	0.036 b

Notas (\*) igual que en TABLA 3



TABLA 13

EFEECTO DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA PRODUCCION DE NODULOS  
EN SOJA, CULTIVADA EN SUELO ROJO

HMAV	NODULOS	
	NUMERO	PESO (g)
A. laevis	19 b*	0.026 b
G. caledonium I	19 b	0.020 b
G. caledonium II	20 b	0.018 b
G. epigaeum	35 a	0.036 a
G. margarita	25 b	0.030 ab

Notas (\*) igual que en TABLA 3

TABLA 14

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA MICORRIZACION  
EN SOJA, EN LOS SUELOS ESTUDIADOS

SUELOS	MICORRIZACION	
	(%)	(DT)
Negro	49.2	(44.5)
Rojo	42.4	(41.1)

Abreviatura igual que en TABLA 2

TABLA 15

EFEECTO DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA MICORRIZACION EN SOJA  
CULTIVADA EN SUELO NEGRO

HMAV	MICORRIZACION	
	(%)	(DT)
A. laevis	46.2	(41.2) c*
G. caledonium I	48.6	(43.4) abc
G. caledonium II	41.4	(42.3) bc
G. epigaeum	55.8	(48.3) a
G. margarita	53.8	(47.2) ab

Abreviatura y notas (\*) igual que en TABLA 2

TABLA 16

EFFECTO DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA MICORRIZACION EN SOJA  
CULTIVADA EN SUELO ROJO

HMAV	MICORRIZACION	
	(%)	(DT)
A. laevis	44.4	(41.8)
G. caledonium I	36.4	(39.5)
G. caledonium II	43.8	(41.4)
G. epigaeum	44.6	(41.8)
G. margarita	43.0	(40.9)

Abreviaturas igual que en TABLA 2

TABLA 17

EFFECTO DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE EL CRECIMIENTO DE  
GLYCINE MAX (L) MERR CV HOOD 75, EN UN SUELO DE CASTELAR

HMAV	Peso Seco P.Aérea (g)	Peso Seco Raíz (g)	PSA:PSR
G. epigaeum	20.52 a*	8.93 a	2.30 a
G. fasciculatum	19.03 a	10.23 a	1.86 a
G. mosseae	14.47 b	5.48 c	2.64 a
sin HMAV	14.96 b	6.12 bc	2.44 a

Símbolos y notas (\*) igual que en TABLA 3

se evidenció del cociente entre los pesos de parte aérea y raíces (PSA/PSR).

Respecto a la nutrición nitrogenada, también *G. epigaeum* y *G. fasciculatum* promovieron a un mayor contenido (TABLA 18), relacionándose esta situación con la mayor producción de nódulos y mejor micorrización para las especies HMAV citadas (TABLA 19). Esto puso en evidencia una buena compatibilidad entre los hongos inoculados, la soja y, su cosimbionte obligado, el *Bradyrhizobium japonicum* que fué el tercer componente importante en el desarrollo de esta leguminosa.

La concentración de fósforo fué mayor para las plantas que fueron inoculadas con *G. epigaeum* y difirió a un nivel  $p=0.05$  del resto de los tratamientos (TABLA 18).

### 3. DEPENDENCIA MICORRICICA DE LA SOJA EN LOS SUELOS ESTUDIADOS.

#### 3.1. Suelo Negro, Granada, España.

En un sentido general, la aplicación de fosfato en dosis crecientes promovió a un aumento de materia seca hasta un límite en el cual, a pesar de incrementar el fertilizante, el desarrollo de las plantas se mantuvo sin diferencias estadísticas significativas (TABLA 20).

Cualquiera de los dos hongos inoculados, favoreció el peso seco de tallos y hojas respecto al control sin HMAV, cuando se analizaron estos tratamientos en forma global

TABLA 18

EFFECTO DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA NUTRICION DE LA SOJA  
EN UN SUELO DE CASTELAR

HMAV	NITROGENO (%)	FOSFORO (%)
G. epigaeum	2.06 a*	0.086 a
G. fasciculatum	1.88 a	0.073 b
G. mosseae	1.35 b	0.068 b
sin HMAV	1.38 b	0.073 b

Símbolos y notas (\*) igual que en TABLA 3

TABLA 19

EFFECTO DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA NODULACION Y LA MICORRIZACION EN SOJA, CULTIVADA EN UN SUELO DE CASTELAR

HMAV	Peso Seco NODULOS (g)	MICORRIZACION (%)	(DT)
G. epigaeum	0.046 a*	64.16	(53.37) a
G. fasciculatum	0.032 b	57.16	(51.25) a
G. mosseae	0.025 b	31.17	(33.89) b
sin HMAV	0.028 b	0	(0) c

Abreviatura y notas (\*) igual que en TABLAS 2 y 3



TABLA 20

EFECTO GLOBAL DE LA FERTILIZACION FOSFATADA SOBRE EL CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS DE SOJA

mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> / Kg suelo	Peso Seco P.Aérea (g)
300	6.29 a*
200	6.31 a
100	5.41 b
50	4.85 c
0	2.75 d

Nota (\*) números seguidos de igual letra no difieren significativamente. Prueba de Duncan, p= 0.01

para todos los niveles de fosfato utilizados (TABLA 21).

En particular, los efectos más diferenciales se observaron en el suelo sin adición de fertilizante donde las plantas inoculadas con *G. mosseae* crecieron significativamente más que las inoculadas con *G. epigaeum* y éstas a su vez respondieron mejor que los controles sin HMAV (TABLA 22 Y FIGURA 1).

No se observaron diferencias significativas en los efectos, entre los niveles de fósforo aplicado, sobre el crecimiento de la raíces. En todas las dosis usadas, las plantas superaron al control (TABLA 23). Tampoco se apreciaron diferencias significativas entre los tratamientos inoculados y sin HMAV en todos los niveles de fosfato (TABLA 24).

El análisis pormenorizado del peso seco de raíces, en cada dosis de fósforo y para cada hongo, sólo detectó diferencias apreciables en los niveles 100 y 300 mg de fósforo. Concretamente, las raíces inoculadas con *G. epigaeum* fueron las más desarrolladas en el primer caso y, en el segundo, las inoculadas con *G. mosseae* los menos, siendo superada por el control (TABLA 25 y FIGURA 2).

Todos los niveles de fósforo aplicados presentaron diferencias significativas sobre la concentración de nitrógeno en parte aérea (TABLA 26), no ocurriendo lo mismo con el potasio (TABLA 32), aunque sí hubo respuesta en lo referente a la concentración de fósforo (TABLA 29). También existieron efectos positivos sobre las

concentraciones de nitrógeno como respuesta a la inoculación con *G. epigaeum* (TABLA 27) y en la concentración de fósforo en tallos y hojas, cuando la soja estuvo micorrizada con cualquiera de los HMAV (TABLA 30). La concentración de potasio incrementó con la inoculación de *G. epigaeum* y en el menor grado con *G. mosseae* (TABLA 33).

Estudiando cada nivel por separado, se reflejó el comportamiento general citado con *G. epigaeum* para las concentraciones de nitrógeno, pues el efecto de este superó significativamente a los valores obtenidos con los otros dos tratamientos, excepto con la mayor dosis de fosfato donde ya no difirió (TABLA 28 y FIGURA 3).

Este mismo análisis para las concentraciones de fósforo en tallos y hojas de las plantas, presenta ligeras variaciones, favoreciendo a las inoculadas con HMAV respecto al control en los dos primeros niveles de fertilización. En las últimas dosis no hubo diferencias, coincidentemente con la ausencia de micorrización (TABLAS 31 y 43, FIGURA 4).

Las concentraciones de potasio en parte aérea no oscilaron demasiado, en las dosis 50 y 200 mg *G. mosseae* tuvo valores inferiores a los otros dos tratamientos (TABLA 34 Y FIGURA 5).

La nodulación mantuvo un comportamiento similar a la producción de materia seca, favoreciéndose con el aumento de fertilizante, con un ligero "plateau" en las dosis

TABLA 21

EFEECTO GLOBALIZADO DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE EL  
 CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS DE SOJA

HMAV	Peso Seco P.Aérea (g)
G. epigaeum	5.42 a*
G. mosseae	5.11 a
sin HMAV	4.87 b

Notas (\*) igual que en TABLA 20

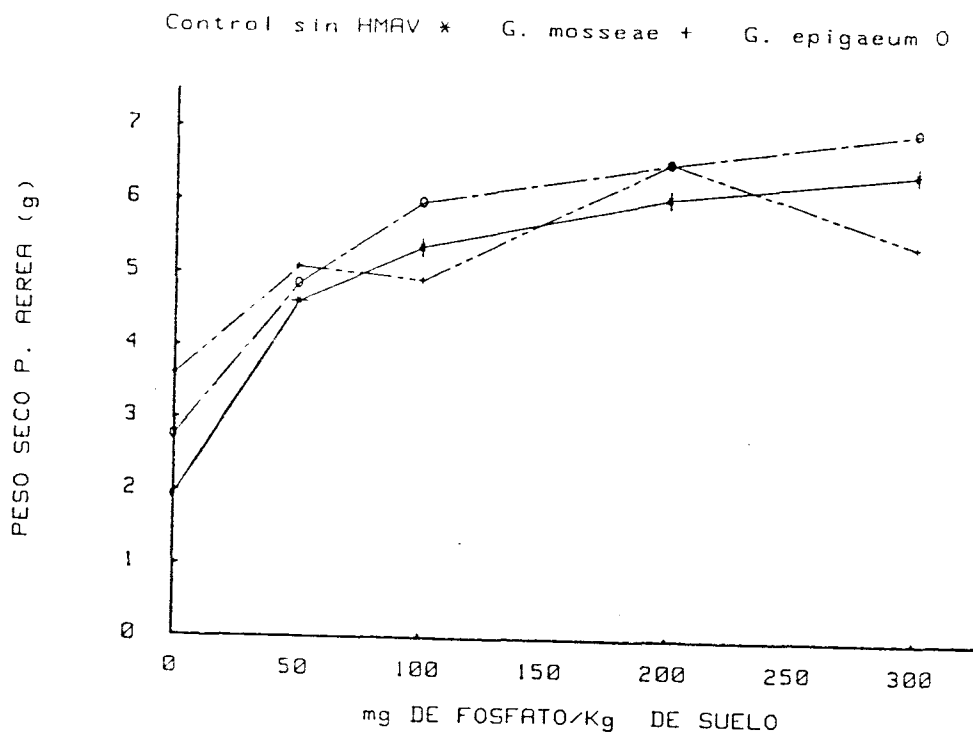


FIGURA 1. Efecto de inoculación con HMAV y de fertilización fosfatada sobre la producción de materia seca en plantas de soja

TABLA 22

ANALISIS ESTADISTICOS DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 1.

HMAV	mg $PO_4HK_2$ /Kg suelo				
	0	50	100	200	300
G. epigaeum	B	A	A	A	A
G. mosseae	A	A	B	A	B
sin HMAV	C	A	AB	A	A

Notas (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 23

EFFECTO GLOBAL DE LA FERTILIZACION FOSFATADA SOBRE EL CRECIMIENTO  
DE RAICES DE LAS PLANTAS DE SOJA

mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> / Kg suelo	Peso Seco Raíz (g)
300	2.66 a*
200	2.34 a
100	2.49 a
50	2.24 a
0	1.70 b

Notas (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 24

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE EL CRECIMIENTO DE RAICES DE LAS PLANTAS DE SOJA

HMAV	Peso Seco Raíz (g)
G. epigaeum	2.37 a*
G. mosseae	2.19 b
sin HMAV	2.30 ab

Notas (\*) igual que en TABLA 20

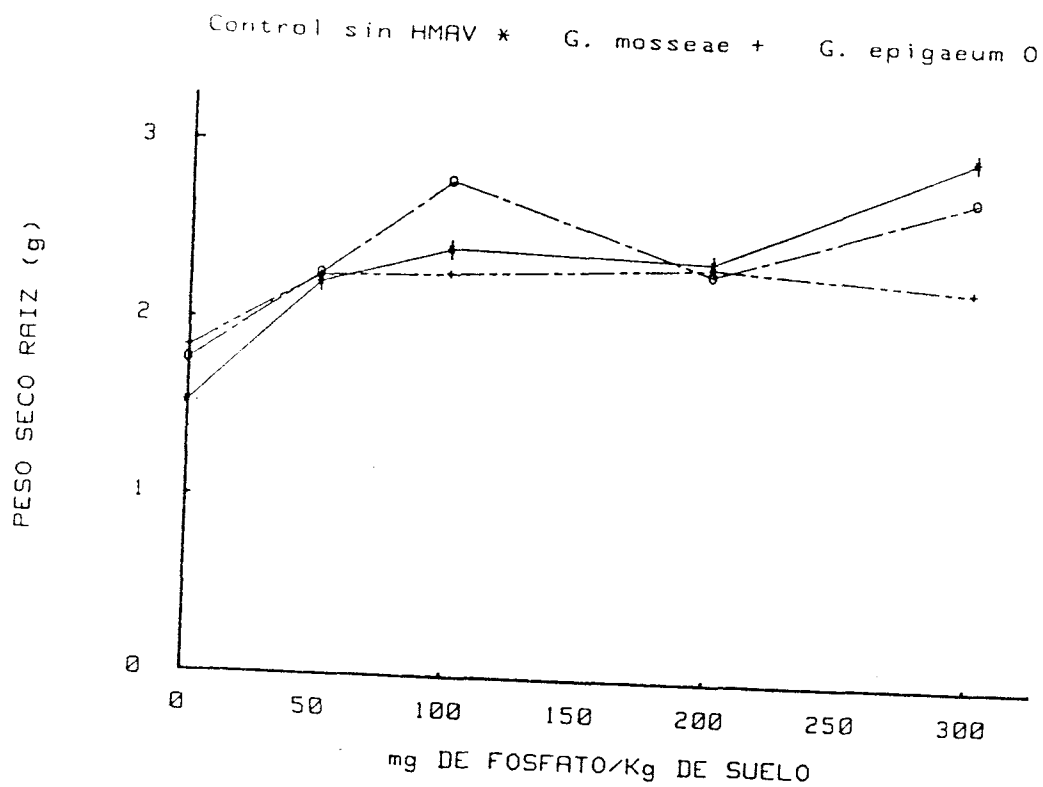


FIGURA 2. Efecto de inoculación con HMAV y de fertilización fosfatada sobre el peso seco de raíces en plantas de soja.

TABLA 25

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 2.

HMAV	mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> /Kg suelo				
	0	50	100	200	300
<i>G. epigaeum</i>	AB*	A	A	A	A
<i>G. mosseae</i>	A	A	B	A	B
sin HMAV	B	A	B	A	A

Notas (\*) igual que en TABLA 20



TABLA 26

EFFECTO GLOBAL DE LA FERTILIZACION FOSFATADA SOBRE LA  
 CONCENTRACION DE NITROGENO EN PARTE AEREA DE LAS PLANTAS DE SOJA

mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> / Kg suelo	NITROGENO (%)
300	1.88 a*
200	1.88 a
100	1.87 a
50	1.85 a
0	1.76 b

Notas (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 27

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA CONCENTRACION DE NITROGENO EN PARTE AEREA DE LAS PLANTAS DE SOJA

HMAV	NITROGENO (%)
G. epigaeum	1.92 a*
G. mosseae	1.83 b
sin HMAV	1.80 b

Notas (\*) igual que en TABLA 20

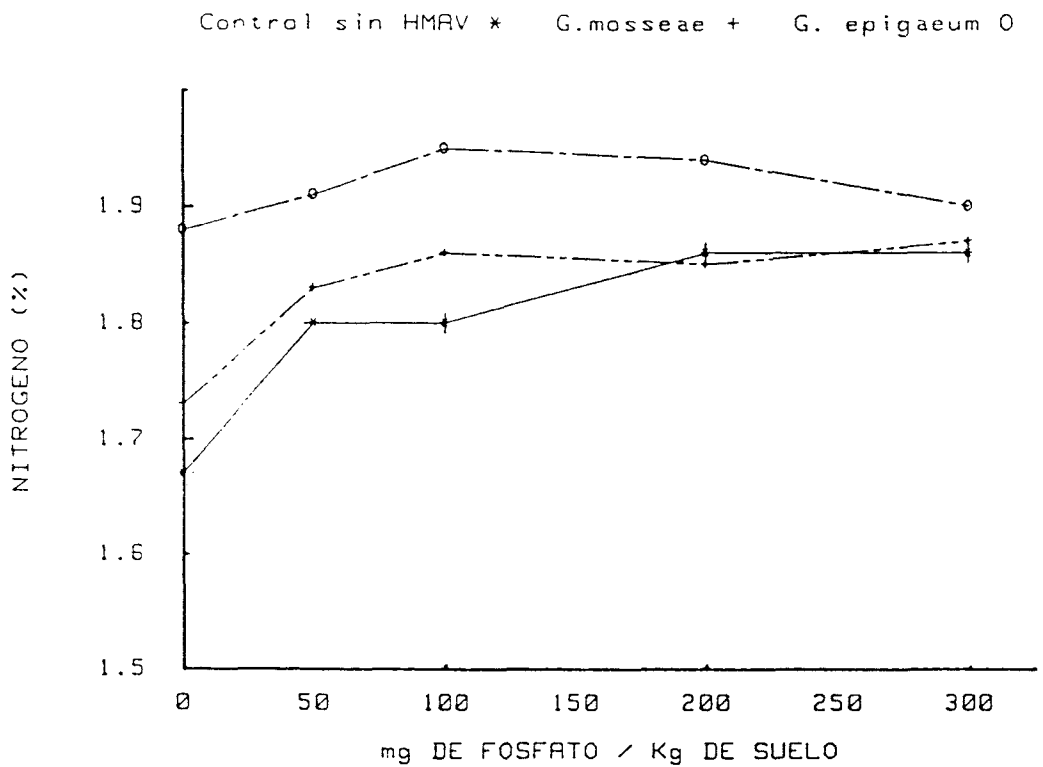


FIGURA 3. Efecto de inoculación con HMAV y de fertilización fosfatada sobre la concentración de nitrógeno en plantas de soja.

TABLA 28

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 3

HMAV	mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> /Kg suelo				
	0	50	100	200	300
G. epigaeum	A*	A	A	A	A
G. mosseae	B	B	B	B	A
sin HMAV	B	B	B	B	A

Notas (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 29

EFFECTO GLOBAL DE LA FERTILIZACION FOSFATADA SOBRE LA  
 CONCENTRACION DE FOSFORO EN PARTE AEREA DE LAS PLANTAS DE SOJA

mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> / Kg suelo	FOSFORO (%)
300	0.10 a*
200	0.09 ab
100	0.08 b
50	0.08 b
0	0.08 b

Notas (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 30

EFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA CONCENTRACION DE FOSFORO EN PARTE AEREA DE LAS PLANTAS DE SOJA

HMAV	FOSFORO (%)
G. epigaeum	0.10 a*
G. mosseae	0.09 a
sin HMAV	0.07 b

Notas (\*) igual que en TABLA 20

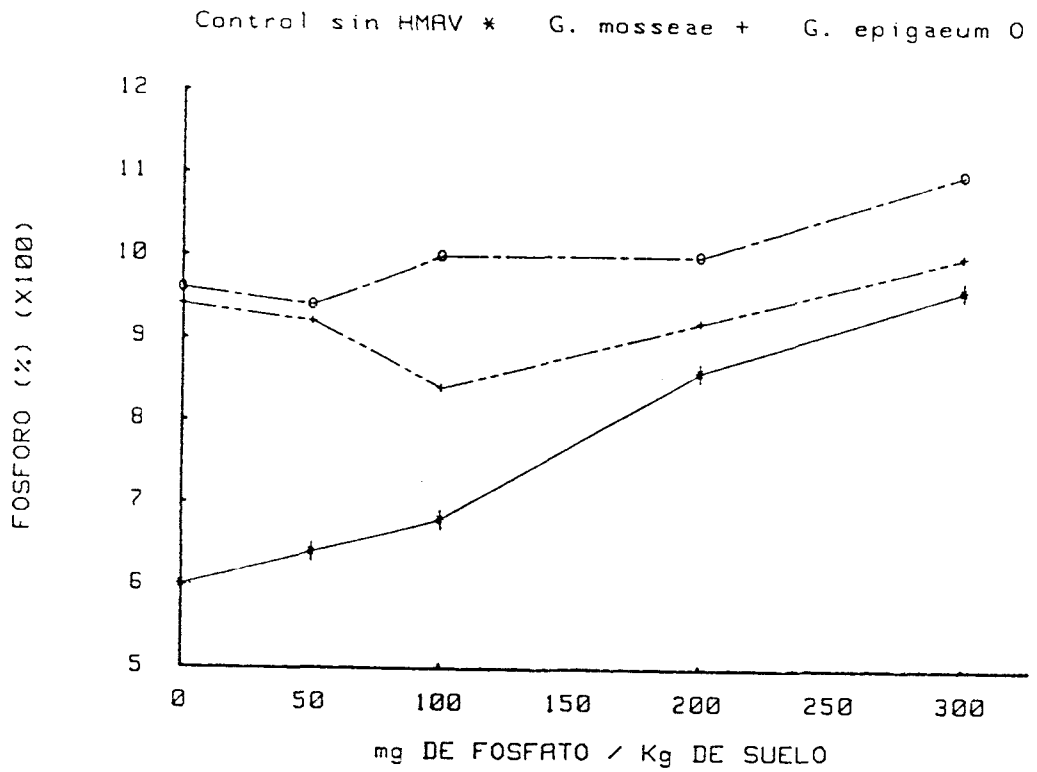


FIGURA 4. Efecto de inoculación con HMAV y de fertilización fosfatada sobre la concentración de fósforo en plantas de soja.

TABLA 31

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 4

HMAV	mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> /Kg suelo				
	0	50	100	200	300
<i>G. epigaeum</i>	A*	A	A	A	A
<i>G. mosseae</i>	A	A	B	A	A
sin HMAV	B	B	B	A	A

Notas (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 32

EFFECTO GLOBAL DE LA FERTILIZACION FOSFATADA SOBRE LA  
 CONCENTRACION DE POTASIO EN PARTE AEREA DE LAS PLANTAS DE SOJA

mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> / Kg suelo	POTASIO (%)
300	0.95 a*
200	0.89 a
100	0.91 a
50	0.92 a
0	0.90 a

Notas (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 33

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA CONCENTRACION DE POTASIO EN PARTE AEREA DE LAS PLANTAS DE SOJA

HMAV	POTASIO (%)
G. epigaeum	0.99 a*
G. mosseae	0.92 b
sin HMAV	0.83 c

Notas (\*) igual que en TABLA 20



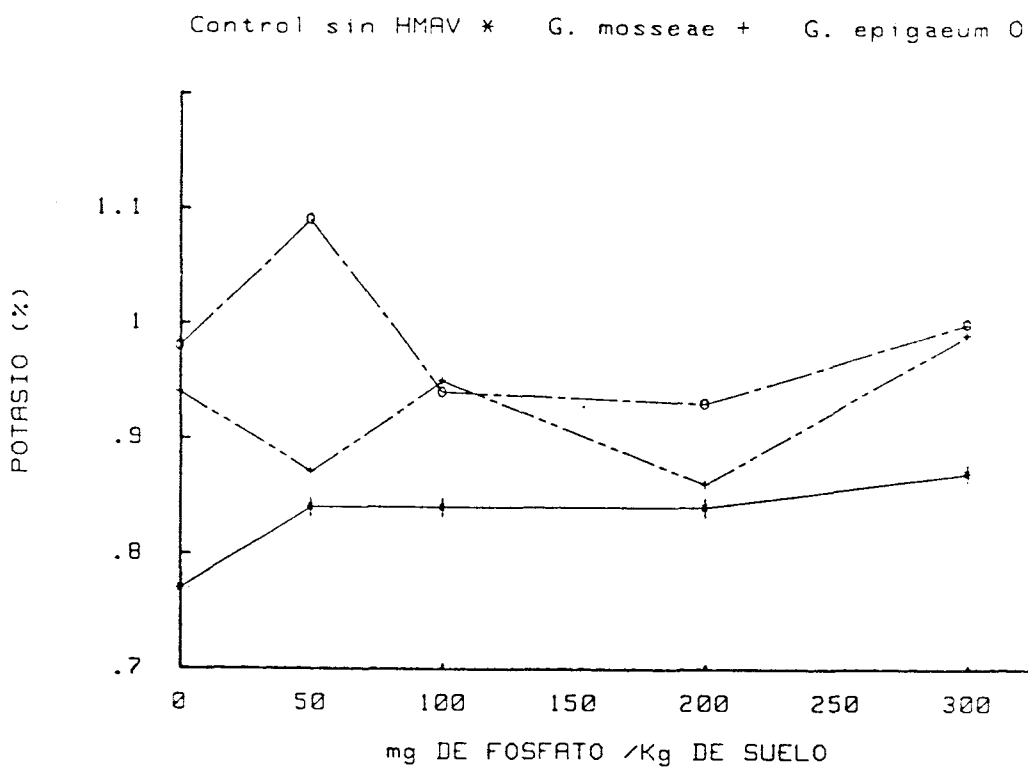


FIGURA 5. Efecto de inoculación con HMAV y de fertilización fosfatada sobre la concentración de potasio en plantas de soja.

TABLA 34

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 5.

HMAV	mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> /Kg suelo				
	0	50	100	200	300
G. epigaeum	A*	A	A	A	A
G. mosseae	A	B	A	B	A
sin HMAV	A	A	A	A	A

Notas (\*) igual que en TABLA 20

mayores (TABLA 35). También es notorio, el efecto sinérgico de los hongos de las micorrizas con su otro simbiote, el *Bradyrhizobium*, pues la nodulación estuvo acrecentada por la micorrización con *G. epigaeum* y *G. mosseae* en este orden de efectividad respectivamente (TABLA 36).

Para cada nivel en forma individual, los dos HMAV estimularon la nodulación en las dosis de 0,100 y 300 mg no existiendo diferencias en la de 200 mg y, aumentando la producción de nódulos sólo *G. epigaeum* en la de 50 mg (TABLA 37 Y FIGURA 6).

La formación de frutos (vainas) tuvo una estimulación poco diferenciada en los cuatro primeros niveles de fertilización y luego incrementó significativamente en el último (TABLA 38). Para esta variable no hubo distinción entre los tratamientos micorrizados y el control (TABLA 39). A pesar de este efecto global, cuando se observó el comportamiento en cada nivel, resultó en una tendencia significativa a favor de las plantas que recibieron HMAV (TABLA 40 Y FIGURA 7) aunque el efecto disminuyó en las dos últimas dosis de fosfato.

La simbiosis micorrícica se vió inhibida por dosis crecientes de fosfato (TABLA 41) y los dos HMAV difirieron en su capacidad colonizadora, superando *G. mosseae* a *G. epigaeum* (TABLA 42), inclusive cuando se estudió cada nivel de fertilización por separado (TABLA 43 Y FIGURA 8).

TABLA 35

EFEECTO GLOBAL DE LA FERTILIZACION FOSFATADA SOBRE LA PRODUCCION DE NODULOS EN LAS PLANTAS DE SOJA

mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> / Kg suelo	Nro. NODULOS
300	57.6 a*
200	51.7 ab
100	47.5 b
50	38.6 c
0	31.2 d

Notas (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 36

EFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA PRODUCCION  
DE NODULOS EN LAS PLANTAS DE SOJA

HMAV	Nro. NODULOS
G. epigaeum	52.7 a*
G. mosseae	47.0 b
sin HMAV	36.5 c

Notas (\*) igual que en TABLA 20

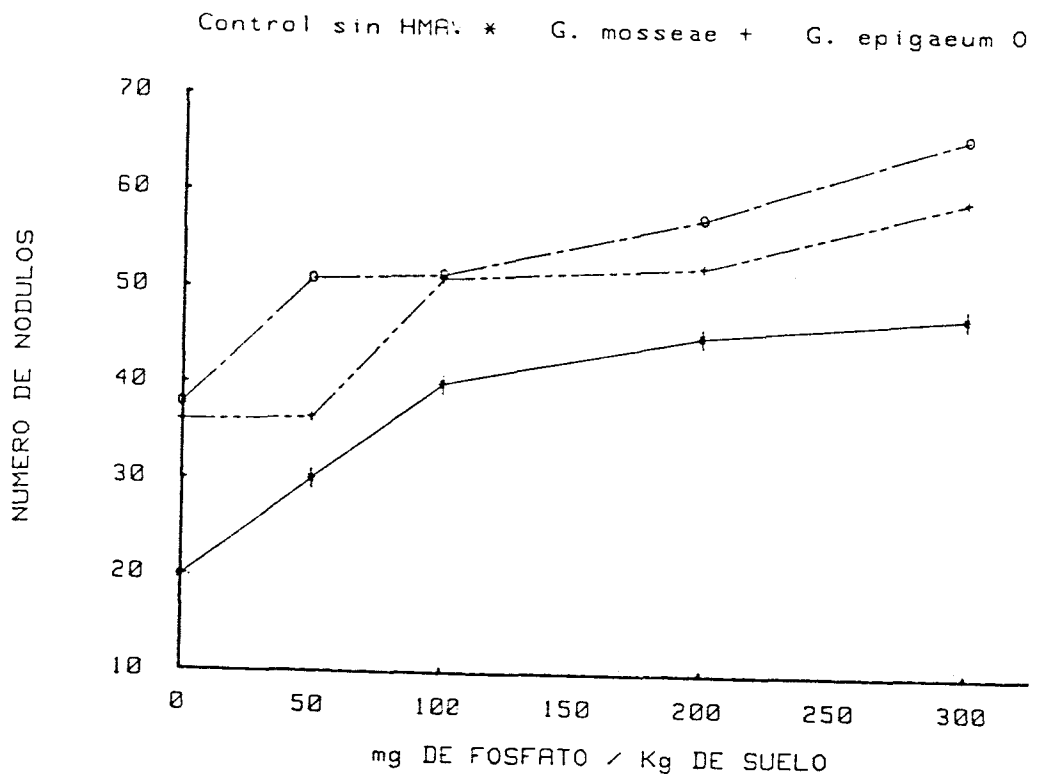


FIGURA 6. Efecto de la inoculación con HMAV y de fertilización fosfatada sobre la producción de nódulos en plantas de soja.

TABLA 37

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 6

HMAV	mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> /Kg suelo				
	0	50	100	200	300
G. epigaeum	A*	A	A	A	A
G. mosseae	A	B	A	A	A
sin HMAV	B	B	B	A	B

Notas (\*) igual que en TABLA 20.

TABLA 38

EFFECTO GLOBAL DE LA FERTILIZACION FOSFATADA SOBRE LA PRODUCCION DE VAINAS EN LAS PLANTAS DE SOJA

mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> / Kg suelo	Nro. VAINAS
300	17.8 a*
200	14.5 b
100	11.5 bc
50	10.7 bc
0	9.3 bc

Notas (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 39

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA PRODUCCION DE  
VAINAS EN LAS PLANTAS DE SOJA

HMAV	Nro. VAINAS
G. epigaeum	12.1
G. mosseae	13.1
sin HMAV	11.2

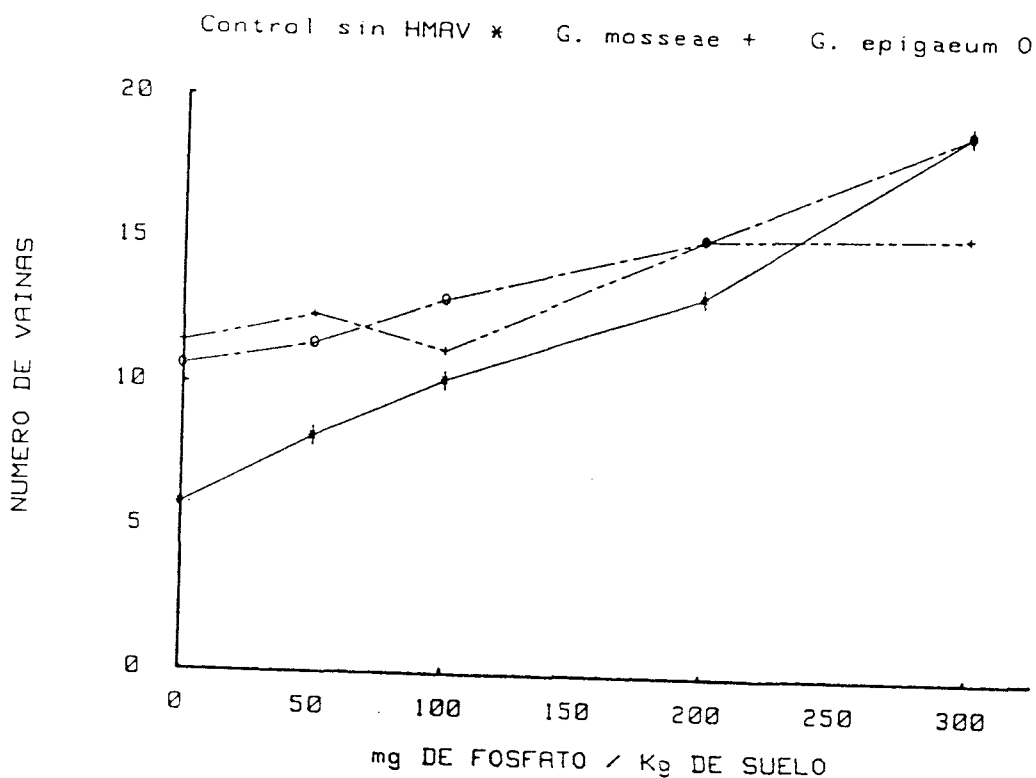


FIGURA 7. Efecto de inoculación con HMAV y de fertilización fosfatada sobre la producción de vainas en plantas de soja.

TABLA 40

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 7

HMAV	mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> /Kg suelo				
	0	50	100	200	300
<i>G. epigaeum</i>	A*	A	A	A	A
<i>G. mosseae</i>	A	A	AB	A	B
sin HMAV	B	B	B	A	A

Notas (\*) igual que en TABLA 20



TABLA 41

EFEECTO GLOBAL DE LA FERTILIZACION FOSFATADA SOBRE LA  
MICORRIZACION EN LAS PLANTAS DE SOJA

mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> / Kg suelo	MICORRIZACION (%) (DT)		
300	0	(0)	a*
200	0	(0)	a
100	9.8	(17.3)	b
50	22.9	(26.6)	c
0	33.5	(40.9)	d

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLAS 2 y 20

TABLA 42

EFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA MICORRIZACION  
DE LAS PLANTAS DE SOJA

HMAV	MICORRIZACION	
	(%)	(DT)
G. epigaeum	9.11	(20.5) a*
G. mosseae	34.99	(35.7) b

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLAS 2 y 20

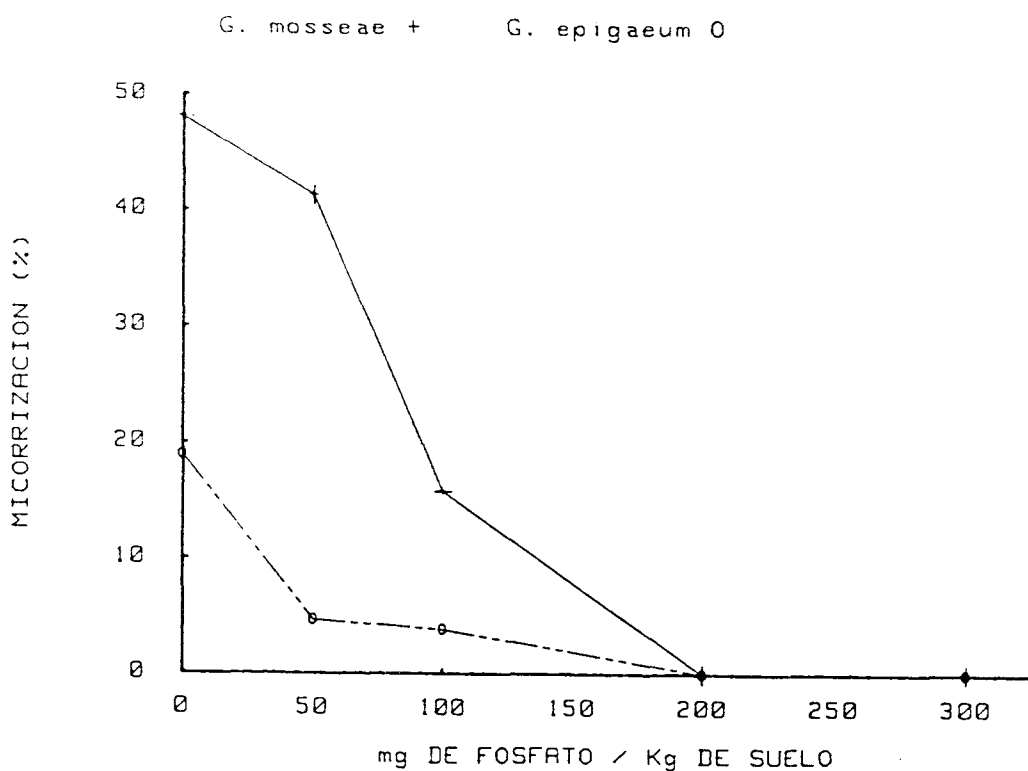


FIGURA 8. Efecto de inoculación con HMAV y de fertilización fosfatada sobre la micorrización en plantas de soja.

TABLA 43

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 8

HMAV	mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> /Kg suelo				
	0	50	100	200	300
G. epigaeum	(37.9)a*	(12.4)a	(11.2)a	0	0
G. mosseae	(43.8)b	(39.9)b	(23.3)b	0	0

Notas (\*) igual que en TABLA 20  
 Datos transformados arc sen  $\sqrt{x}$ .

### 3.2 Suelo de Castelar, Buenos Aires, Argentina.

La incorporación de fertilizante aumentó significativamente la cantidad de materia seca, sin que ésta se alterara entre 100 y 200 mg de fosfato (TABLA 44). Los HMAV inoculados estimularon el crecimiento y *G. epigaeum* fué más eficiente que *G. mosseae* (TABLA 45). Cuando se estudió el efecto para cada nivel de fosfato se observó esta eficiencia estadísticamente diferente de *G. epigaeum*; *G. mosseae* sólo estimula más que el control sin HMAV en el primer nivel de fosfato aunque su tendencia fué como se mencionó antes de superar a dicho control (TABLA 46 Y FIGURA 9).

Se detectó una tendencia lineal en el peso seco de raíces, creciendo a medida que se aumentaron las dosis de fosfato (TABLA 47). El comportamiento de los HMAV fué estimulante igual que con el peso seco de tallos y hojas (TABLA 48). En un análisis pormenorizado, *G. mosseae* difirió del control, no así *G. epigaeum* en el primer nivel de fosfato; en la segunda dosis, se homologó el crecimiento de las raíces; con 200 mg, los dos hongos promueven a mayor materia seca y, en 300 mg, sólo *G. epigaeum* superó el control (TABLA 49 Y FIGURA 10).

La concentración de nitrógeno aumentó a medida que se adicionó más fósforo pero, en los dos últimos niveles permaneció invariable (TABLA 50). Los HMAV promovieron a un mayor contenido de este nutriente en las plantas (TABLA 51). En el primer y en el último nivel de fosfato, *G. mosseae* determinó un aumento en la concentración de

TABLA 44

EFEECTO GLOBAL DE LA FERTILIZACION FOSFATADA SOBRE EL CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS DE SOJA

mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> / Kg suelo	Peso Seco P.Aérea (g)
300	16.71 a*
200	13.71 b
100	13.49 b
0	8.44 c

Notas (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 45

EFECTO GLOBALIZADO DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE EL  
 CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS DE SOJA

HMAV	Peso Seco P.Aérea (g)
G. epigaeum	16.11 a*
G. mosseae	12.34 b
sin HMAV	10.82 c

Notas (\*) igual que en TABLA 20

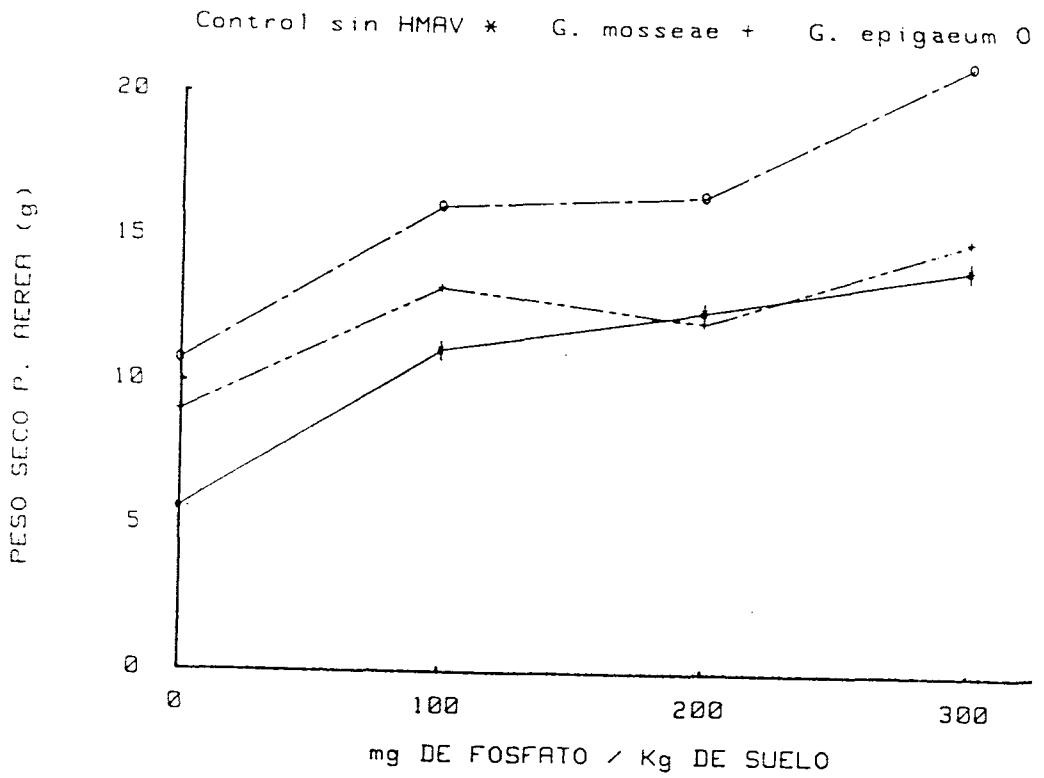


FIGURA 9. Efecto de inoculación con HMAV y de fertilización fosfatada sobre la producción de materia seca en plantas de soja.

TABLA 46

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 9

HMAV	mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> /Kg suelo			
	0	100	200	300
G. epigaeum	A*	A	A	A
G. mosseae	B	B	B	B
sin HMAV	C	B	B	B

Notas (\*) igual que en tabla 20

TABLA 47

EFFECTO GLOBAL DE LA FERTILIZACION FOSFATADA SOBRE EL CRECIMIENTO DE RAICES DE LAS PLANTAS DE SOJA

mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> / Kg suelo	Peso Seco Raíz (g)
300	9.06 a*
200	8.10 b
100	7.24 c
0	6.18 d

Notas (\*) igual que en TABLA 20



TABLA 48

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE EL CRECIMIENTO DE RAICES DE LAS PLANTAS DE SOJA

HMAV	Peso Seco Raíz (g)
G. epigaeum	9.09 a*
G. mosseae	7.65 b
sin HMAV	6.20 c

Notas (\*) igual que en TABLA 20

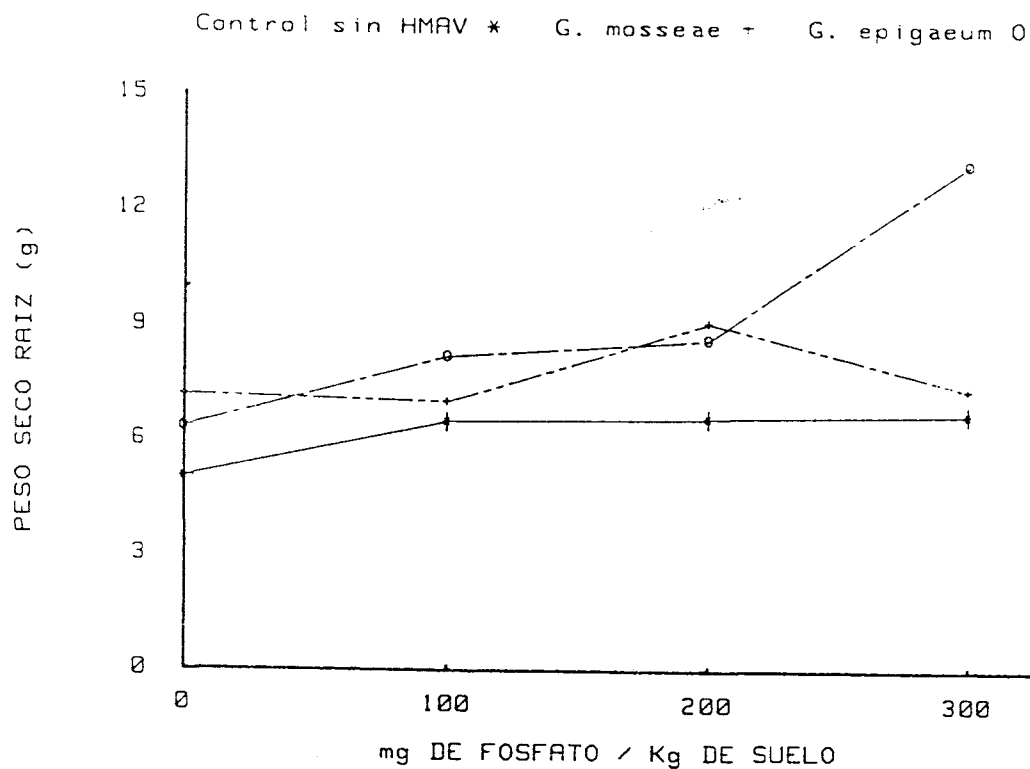


FIGURA 10. Efecto de inoculación con HMAV y de fertilización fosfatada sobre el peso seco de raíces en plantas de soja.

TABLA 49

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 10

HMAV	mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> /Kg suelo			
	0	100	200	300
G. epigaeum	AB*	A	A	A
G. mosseae	A	A	A	B
sin HMAV	B	A	B	B

Notas (\*) igual que en TABLA 20.

TABLA 50

EFFECTO GLOBAL DE LA FERTILIZACION FOSFATADA SOBRE LA  
CONCENTRACION DE NITROGENO EN PARTE AEREA DE LAS PLANTAS DE SOJA

mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> / Kg suelo	NITROGENO (%)
300	2.00 a*
200	1.98 a
100	1.90 b
0	1.69 c

Notas (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 51

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA CONCENTRACION DE NITROGENO EN PARTE AEREA DE LAS PLANTAS DE SOJA

HMAV	NITROGENO (%)
G. epigaeum	1.89 b*
G. mosseae	1.96 a
sin HMAV	1.83 c

Notas (\*) igual que en TABLA 20

nitrógeno; con 100 mg de fosfato, ambos HMAV superaron significativamente al control y en la tercer dosis todos se mantuvieron invariables (TABLA 52 Y FIGURA 11).

La concentración de fósforo siguió el mismo ritmo que la de nitrógeno (TABLA 53) pero sólo *G. epigaeum* aumentó significativamente el fósforo en las plantas (TABLA 54), principalmente en las dosis de 100 y 200 mg. (TABLA 55). Solo en la última dosis *G. mosseae* superó al testigo y se igualó al comportamiento de *G. epigaeum* (TABLA 55 Y FIGURA 12).

La producción de vainas mejora con la fertilización sin embargo entre 100 y 200 mg permaneció estacionaria (TABLA 56) Los HMAV influyeron en el aumento de frutos siendo el efecto de *G. epigaeum* superior al del otro hongo usado (TABLA 57).

Excepto en el nivel con 200 mg de fertilizante el comportamiento de *G. mosseae* se igualó al del control, en todos los niveles se mantuvo la tendencia general a que *G. epigaeum* fuera más eficiente que *G. mosseae* y ambos superiores al control sin HMAV (TABLA 58 Y FIGURA 13)

La nodulación respondió linealmente a la fertilización hasta los 200 mg de fosfato ya que en las dos últimas dosis no aumentó (TABLA 59). Las dos especies fúngicas compatibilizaron bien con el *Bradyrhizobium* promoviendo a un mayor número de nódulos cuando se hallaron compartiendo el sistema radical de las plantas de soja (TABLA 60). En cada nivel se observó claramente este

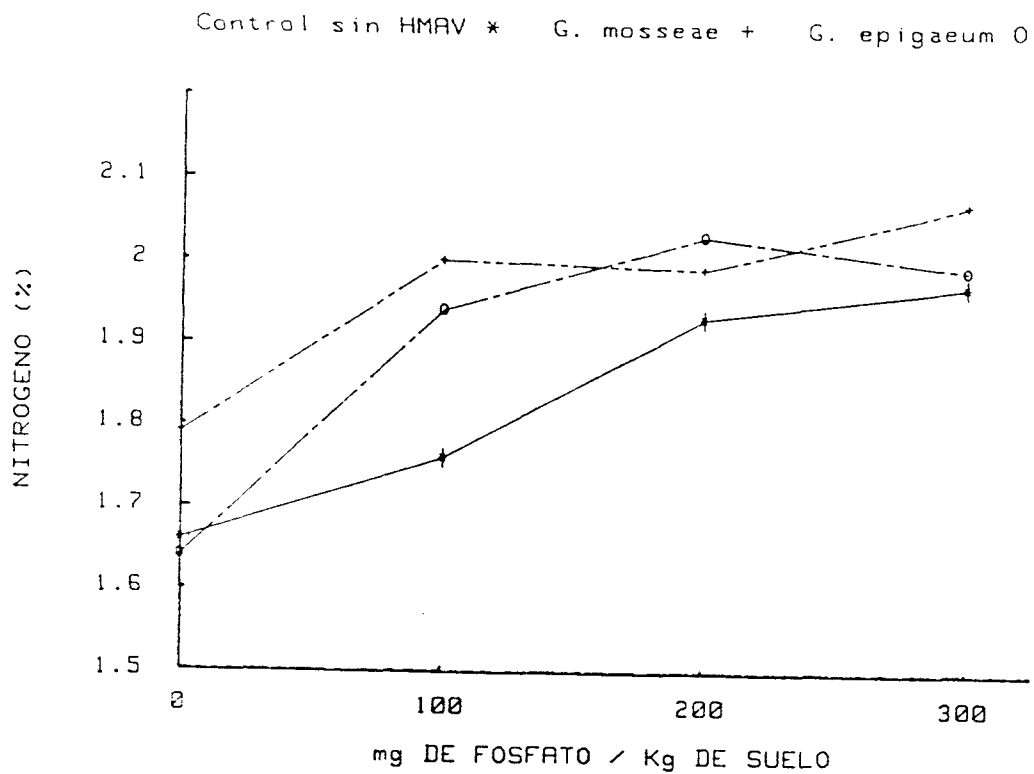


FIGURA 11. Efectos de inoculación con HMAV y de fertilización fosfatada sobre la concentración de nitrógeno en plantas de soja.

TABLA 52

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 11.

HMAV	mg $PO_4 HK_2$ / suelo			
	0	100	200	300
G. epigaeum	B*	A	A	B
G. mosseae	A	A	A	A
sin HMAV	B	B	A	B

Notas (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 53

EFECTO GLOBAL DE LA FERTILIZACION FOSFATADA SOBRE LA  
CONCENTRACION DE FOSFORO EN PARTE AEREA DE LAS PLANTAS DE SOJA

mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> / Kg suelo	FOSFORO (%)
300	0.12 a*
200	0.11 a
100	0.09 b
0	0.07 c

Notas (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 54

EFEECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA CONCENTRACION DE FOSFORO EN PARTE AEREA DE LAS PLANTAS DE SOJA

HMAV	FOSFORO (%)
G. epigaeum	0.11 a*
G. mosseae	0.09 b
sin HMAV	0.09 b

Notas (\*) igual que en TABLA 20



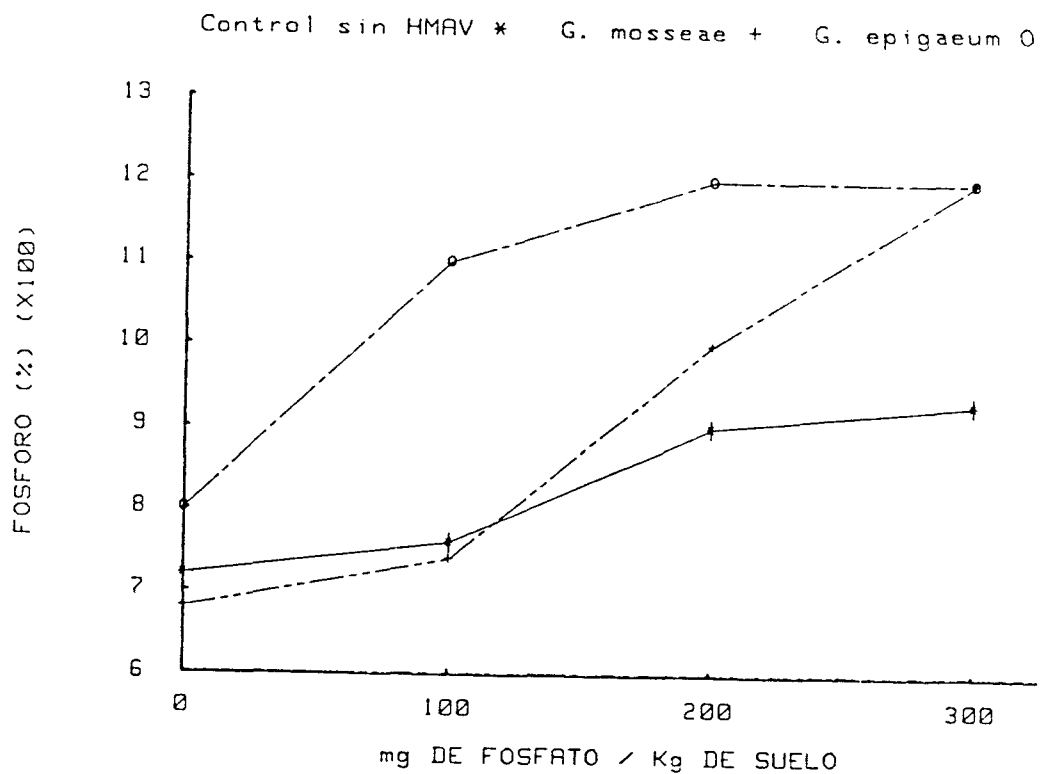


FIGURA 12. Efecto de la inoculación con HMAV y de la fertilización fosfatada sobre la concentración de fósforo en plantas de soja.

TABLA 55

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 12.

HMAV	mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> /Kg suelo			
	0	100	200	300
G. epigaeum	A*	A	A	A
G. mosseae	A	B	B	A
sin HMAV	A	B	B	B

Notas (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 56

EFFECTO GLOBAL DE LA FERTILIZACION FOSFATADA SOBRE LA PRODUCCION DE VAINAS EN LAS PLANTAS DE SOJA

mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> / Kg suelo	Nro. VAINAS
300	16.33 a*
200	14.33 b
100	13.60 b
0	11.73 c

Notas (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 57

EFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA PRODUCCION DE  
VAINAS EN LAS PLANTAS DE SOJA

HMAV	Nro. VAINAS
G. epigaeum	17.90 a*
G. mosseae	14.10 b
sin HMAV	10.00 c

Notas (\*) igual que en TABLA 20

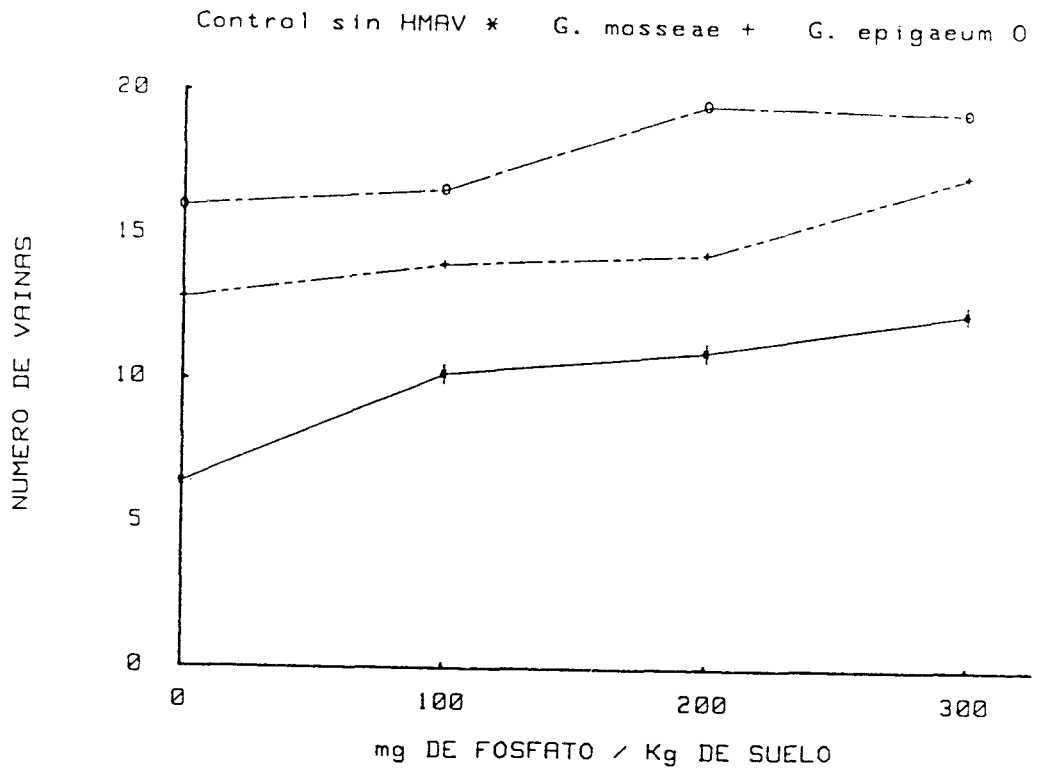


FIGURA 13. Efecto de inoculación con HMAV y de fertilización fosfatada sobre la producción de vainas en plantas de soja.

TABLA 58

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 13.

HMAV	0	mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> /Kg suelo		
		100	200	300
<i>G. epigaeum</i>	A*	A	A	A
<i>G. mosseae</i>	B	B	B	B
sin HMAV	C	C	B	C

Notas (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 59

EFECTO GLOBAL DE LA FERTILIZACION FOSFATADA SOBRE LA PRODUCCION DE NODULOS EN LAS PLANTAS DE SOJA

mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> / Kg suelo	Nro. NODULOS
300	47.87 a*
200	48.40 a
100	41.80 b
0	34.87 c

Notas (\*) igual que en TABLA 20.

TABLA 60

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA PRODUCCION DE NODULOS EN LAS PLANTAS DE SOJA

HMAV	Nro. NODULOS
G.epigaeum	50.85 a*
G.mosseae	47.65 a
sin HMAV	31.20 b

Notas (\*) igual que en TABLA 20.

efecto sinérgico (TABLA 61 Y FIGURA 14).

La colonización micorrícica disminuyó gradualmente a medida que se aumentó el fosfato en el suelo (TABLA 62). De los dos HMAV, el más invasor fué el *G. epigaeum* (TABLA 63) pero este efecto general sólo se reflejó en el suelo original sin fertilización porque luego, en todas las dosis usadas, no hubo diferencias significativas entre ellos (TABLA 64 Y FIGURA 15).

#### 4. ESTUDIOS DE INTERACCION ENTRE DIFERENTES CEPAS DE BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM Y MICORRIZAS NATIVAS DE UN SUELO DE CASTELAR.

##### 4.1. Ensayo en condiciones controladas.

El mayor efecto sobre la producción de materia seca, fué el proporcionado por la cepa E110, ésta al igual que la E104 y E45 estimularon más la nodulación (TABLA 65).

La inoculación con *Bradyrhizobium* (cepa E110), también favoreció la colonización de los hongos presentes naturalmente en ese suelo, aunque, excepto la cepa E97, todas las restantes estimularon la micorrización en forma significativamente comparable (TABLA 66).

Se recuperaron más esporas cuando se inoculó con las cepas E110 y E104 (TABLA 66).

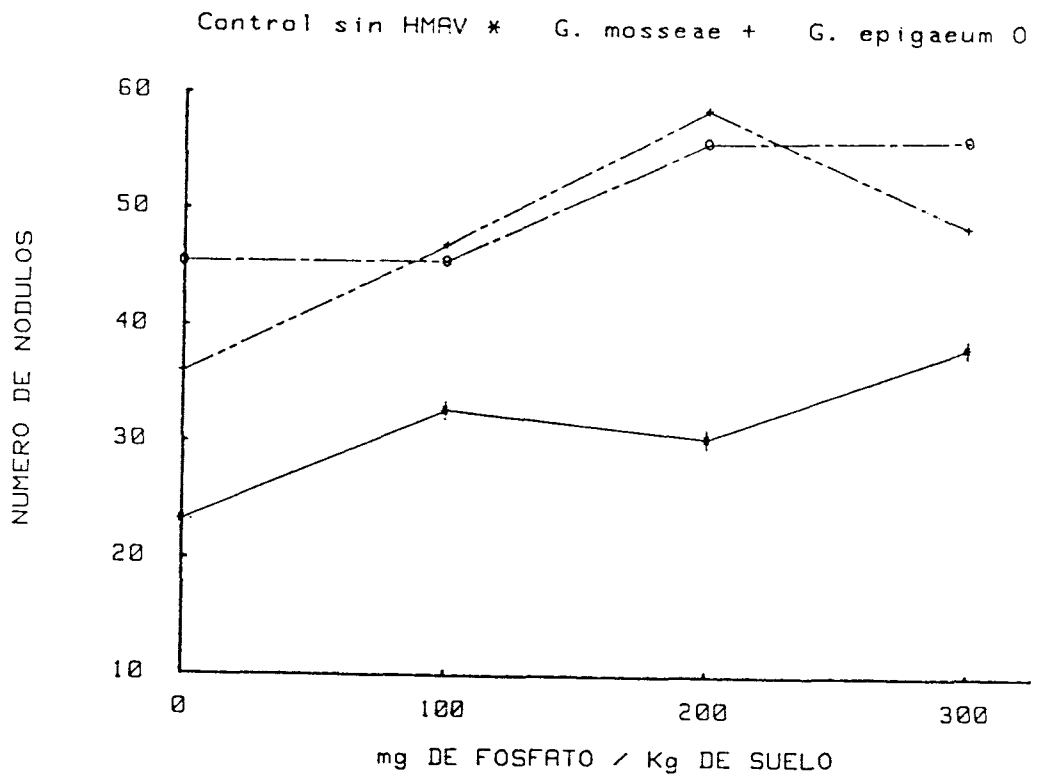


FIGURA 14. Efecto de la inoculación con HMAV y de fertilización fosfatada sobre la producción de nódulos en plantas de soja.

TABLA 61

ANALISIS ESTADISTICOS DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 14

HMAV	mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> / Kg suelo			
	0	100	200	300
G.epigaeum	A*	A	A	A
G.mosseae	B	A	A	B
sin HMAV	C	B	B	C

Notas (\*) igual que en TABLA 20



TABLA 62

EFFECTO GLOBAL DE LA FERTILIZACION FOSFATADA SOBRE LA  
MICORRIZACION EN LAS PLANTAS DE SOJA

mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> / Kg suelo	MICORRIZACION (%) (DT)	
300	2.44	(10.6) a*
200	16.00	(23.6) b
100	34.90	(36.2) c
0	34.70	(35.5) c

Abreviaturas como en TABLA 2. Notas (\*) como en TABLA 20

TABLA 63

EFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON HMAV SOBRE LA MICORRIZACION  
EN PLANTAS DE SOJA

HMAV	MICORRIZACION	
	(%)	(DT)
G.epigaeum	26.25	(28.8) a*
G.mosseae	18.25	(24.2) b

Abreviaturas como en TABLA 2. Notas (\*) como en TABLA 20

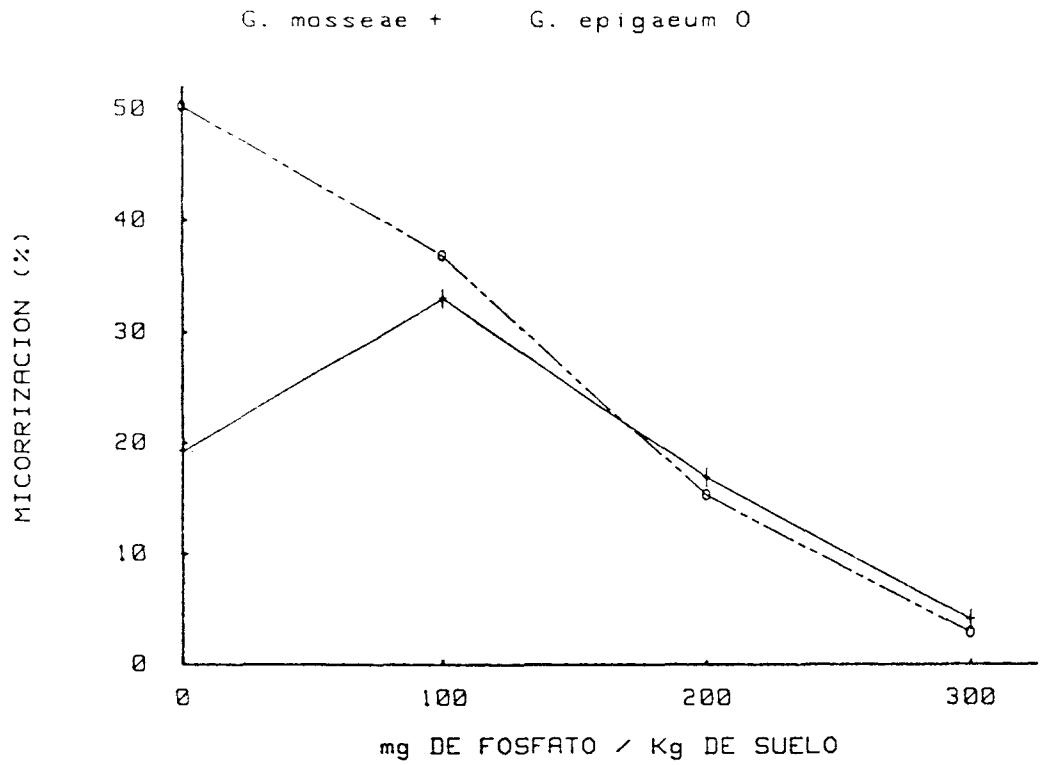


FIGURA 15. Efecto de inoculación con HMAV y de fertilización fosfatada sobre la micorrización en plantas de soja.

TABLA 64

ANALISIS ESTADISTICOS DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 15  
V.T. (Variable Transformada)

HMAV	mg PO <sub>4</sub> HK <sub>2</sub> / Kg suelo			
	0	100	200	300
G. epigaeum	(45.1)a*	(37.4)a	(22.9)a	(9.6)a
G. mosseae	(25.9)b	(35.1)a	(24.2)a	(11.5)a

Notas (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 65

EFFECTO DE LA INOCULACION CON DIFERENTES CEPAS DE BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM SOBRE LA PRODUCCION DE MATERIA SECA Y LA NODULACION EN PLANTAS DE SOJA.

Cepa de Bradyrhizobium inoculada.	Peso Seco P. Aérea (g)	Nodulación (*)
E 45	3.25 ab* *	9
E 97	3.34 ab	6
E 104	3.15 b	10
E 109	2.85 b	6
E 110	4.30 a	10
control	2.31 b	0

\* Escala arbitraria estimada de 0 a 10  
 Notas (\*\*) como en TABLA 2.

TABLA 66

EFFECTO DE LA INOCULACION DE PLANTAS DE SOJA CON DIFERENTES CEPAS DE BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM SOBRE LAS MICORRIZAS NATIVAS\*\*.

Cepa de Bradyrhizobium inoculada	MICORRIZACION (%)	(DT)	Nro. ESPORAS en 100 ml suelo
E 45	38	(38.1) a*	43 b
E 97	24	(19.3) b	40 b
E 104	35	(36.3) a	76 a
E 109	31	(33.8) a	40 b
E 110	46	(42.7) a	102 a
control	25	(30.0) b	42 b

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLA 2

\*\* En condiciones controladas.

#### 4.2. Ensayo en condiciones de campo.

Las cepas E110, E45 y E104 favorecieron más la micorrización y como puede observarse en la TABLA 67, también las dos primeras cepas mencionadas y la E97 provocaron la formación de mayor número de esporas que el control carente de *Bradyrhizobium*.

### 5. ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES ENTRE BRADYRHIZOBIUM, GLOMUS Y GLICINE MAX EN EL SUELO NEGRO DE GRANADA.

Como se ha señalado en el capítulo de Materiales y Métodos, el análisis estadístico para cada variable siguió una serie de etapas. A fin de no abundar en la presentación de tablas de datos, en los casos en que no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas se limitaron dichos resultados a un comentario en el texto y sólo se detallaron los datos que presentaron significación.

#### 5.1. Peso seco de tallos y hojas.

En las FIGURAS 16, 17, y 18 se observa, en forma gráfica, el mismo resultado que la prueba de Shafiro Wilks para normalidad. La transformación logaritmo, mejoró la heterogeneidad de varianzas producida por el crecimiento de las plantas a través del tiempo. Globalizando, se visualizó una tendencia, no significativa a que el *Glomus* inoculado a los 15 días

(G15) produjera mayor peso seco de parte aérea (TABLA 68).

El análisis de varianza dió interacción significativa entre los niveles de nitrógeno, fósforo y evaluaciones, razón por la cual se efectuó un análisis dentro de cada nivel de fósforo (P, G0 y G15).

#### 5.1.1. Fertilización con fosfato (P).

No se detectó interacción entre los niveles de nitrógeno a través del tiempo, pero sí diferencias entre las medias (TABLA 69), detectándose para el tratamiento fertilizado con fosfato e inoculado a los 15 días desde la siembra con *Bradyrhizobium* (PB15) un efecto estimulante sobre el crecimiento de la soja. Dicho crecimiento se detuvo al final, en las dos últimas evaluaciones (TABLA 70)

#### 5.1.2. Inoculación con *G. epigaeum* en el momento de la siembra (G0).

Se presentó en este caso interacción entre los niveles de nitrógeno y las evaluaciones y hubo tendencia a mayor producción de materia seca para el tratamiento con HMAV y *B. japonicum* a los 15 días (G0 B15) (TABLA 71). Se diferenció el crecimiento de las plantas de los tratamientos anteriores (5.1.1.) en que no se estacionó al final del ensayo (TABLA 72).

TABLA 67

EFFECTO DE LA INOCULACION DE PLANTAS DE SOJA CON DIFERENTES CEPAS DE BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM SOBRE LAS MICORRIZAS NATIVAS\*\*.

Cepa de Bradyrhizobium inoculada	MICORRIZACION		Nro. ESPORAS en 100 ml suelo
	(%)	(DT)	
E 45	56	(48.5) ab*	150 a
E 97	42	(40.4) cd	113 b
E 104	54	(47.3) ab	75 c
E 109	48	(43.8) bc	71 c
E 110	61	(51.4) a	167 a
Control	39	(38.7) d	50 c

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLA 2.

\*\* En condiciones de campo.



TABLA 68

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON GLOMUS EPIGAEUM (G15 Y G0) Y LA FERTILIZACION FOSFATADA (P) SOBRE EL CRECIMIENTO DE LA SOJA. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	Peso Seco P.Aérea (1)
G15	0.28 a*
G0	0.22 a
P	0.20 a

G15= Glomus inoculado a los 15 días; G0= Glomus inoculado al tiempo "cero"; P= fertilizacion con fosfato.

Nota (1) Datos transformados para el análisis estadístico (ln x).

Nota (\*) Números seguidos de igual letra no difieren significativamente - Prueba de Tukey,  $p = 0.01$ .

TABLA 69

EFFECTO GLOBAL DE INOCULACION CON B. JAPONICUM (B) Y ADICION DE FOSFATO (P) SOBRE EL CRECIMIENTO DE LA SOJA. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	Peso Seco P. Aérea (1)
P B15	0.31 a*
P B0	0.17 b
P N	0.11 b

B15= Bradyrhizobium inoculado a los 15 días; B0= Bradyrhizobium inoculado al tiempo "cero"; N= Fertilización con nitrógeno.  
Demás abreviaturas y notas (\*) (1) igual que en TABLA 68.

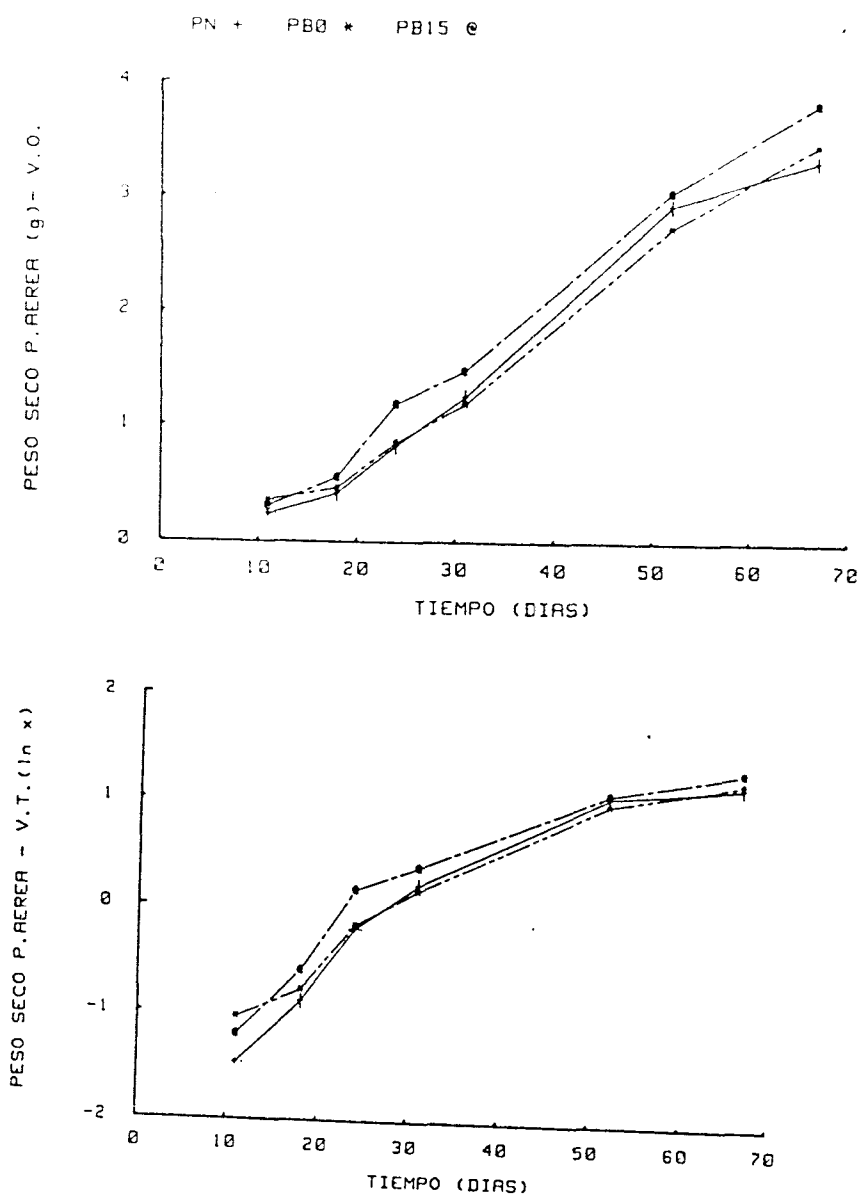


FIGURA 16. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) cuando se adiciona fosfato (P) sobre el peso seco de parte aérea en plantas de soja.

TABLA 70

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 16.  
V.T. (Variable Transformada)

TIEMPO (días)					
11	18	24	31	52	67
A*	B	C	D	E	E

Notas (\*) igual que en TABLA 68.

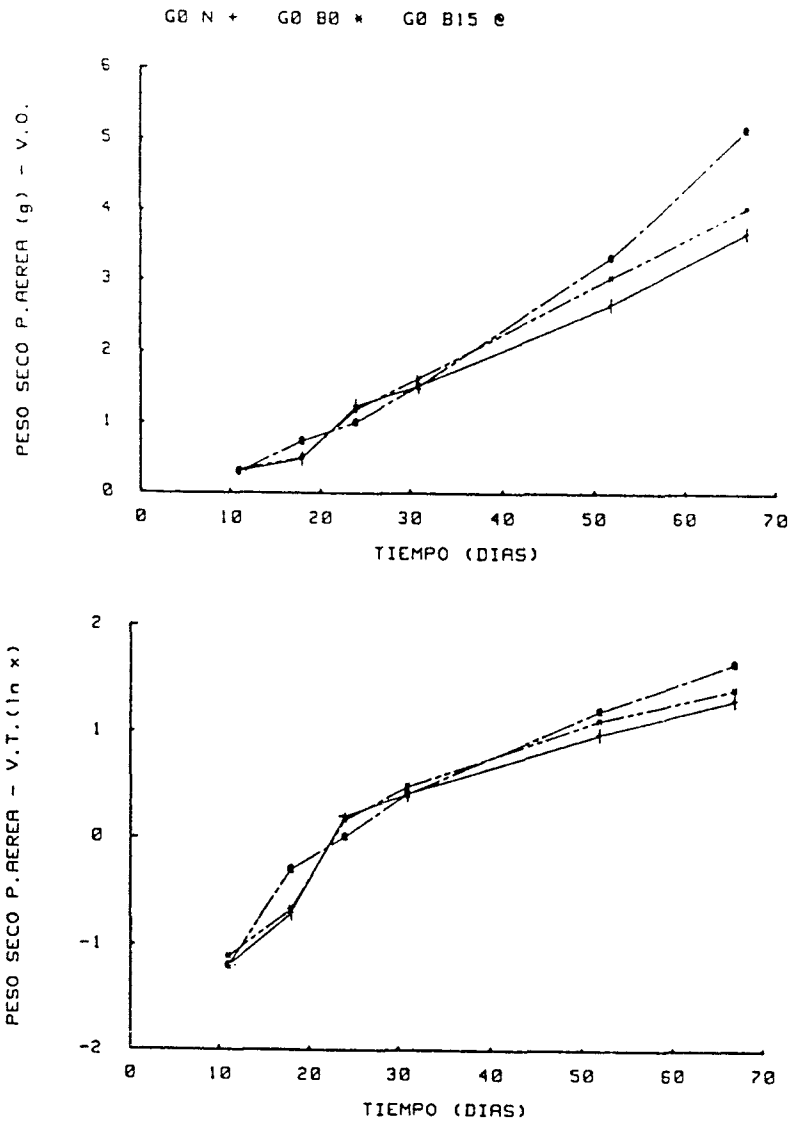


FIGURA 17. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con *Bradyrhizobium* (B15 y B0) y con *Glomus* (G0) sobre el peso seco de parte aérea en plantas de soja.

TABLA 71

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 17.  
V.T. (Variable Transformada).

TRATAMIENTO	TIEMPO (días)					
	11	18	24	31	52	67
G0 B15	A*	A	A	A	A	A
G0 B0	A	B	A	A	A	A
G0 N	A	B	A	A	A	AB B

Abreviaturas y notas (\*) como en TABLAS 68 Y 69.

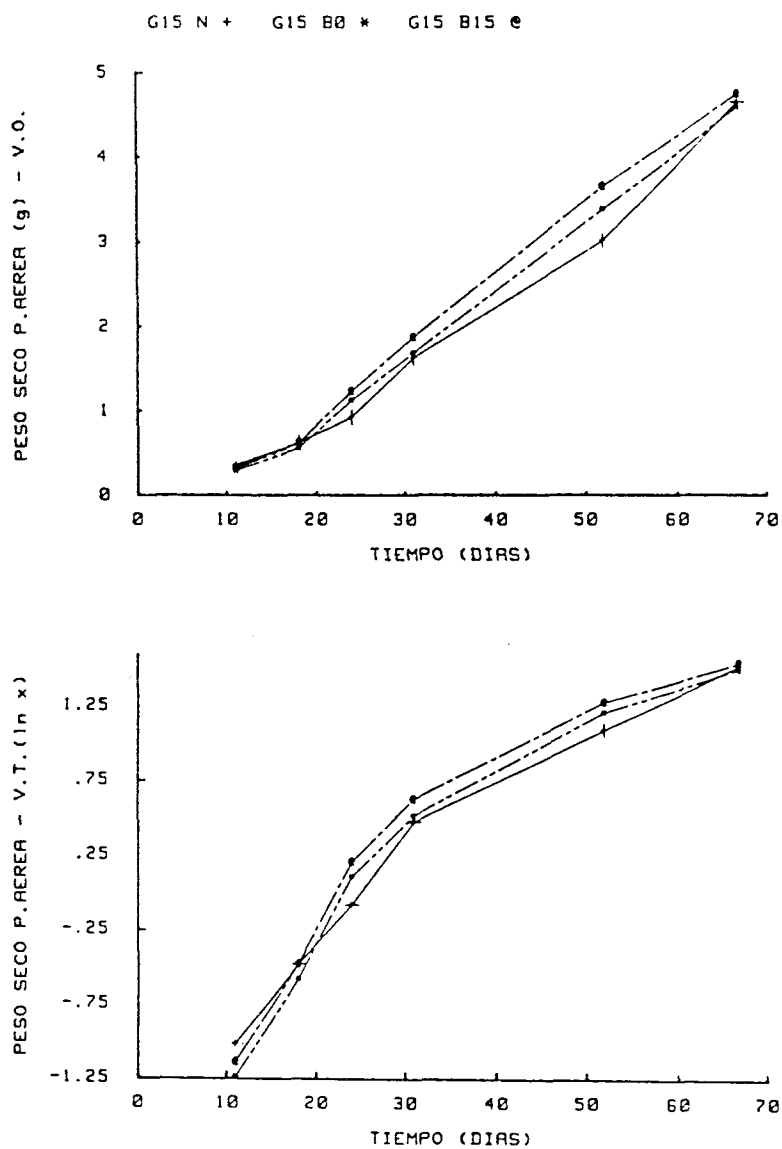


FIGURA 18. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) y con Glomus (G15) sobre el peso seco de parte aérea en plantas de soja.

TABLA 72

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS INOCULADOS CON G. EPIGAEUM (G0). VALORES DE PESO SECO DE PARTE AEREA (1).

11	18	TIEMPO (días)		52	67
		24	31		
-1.17 a*	-0.56 b	-0.16 c	-0.43 d	1.10 e	1.22 f

Notas (1) y (\*) igual que en TABLA 68 y 69

### 5.1.3. Inoculación con G. epigaeum a los 15 días desde la siembra (G15).

Sólo se presentaron diferencias en la evolución de las plantas a través del tiempo (TABLA 73).

### 5.2. Peso seco de raíces.

En las FIGURAS 19, 20, y 21, se pudo verificar que la transformación de la variable, mejoró la homogeneidad de los datos para su estudio estadístico. En un sentido general, el tratamiento inoculado con *Glomus* a los 15 días (G15) produjo mayor cantidad de materia seca en raíces (TABLA 74). Al igual que la anterior hubo interacción de los niveles de fósforo a través del tiempo y se analizaron las medias dentro de cada nivel.

#### 5.2.1. Fertilización con fosfato (P).

Sólo a los 11 y a los 24 días existieron diferencias significativas y la tendencia fué el logro de un mayor desarrollo de las raíces en los tratamientos fertilizados e inoculados con el *Rhizobium* a los 15 días (PB15). (TABLA 75). Las raíces, al igual que la parte aérea estacionaron su crecimiento en los 2 últimos períodos de evaluación (TABLA 76).

TABLA 73

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS INOCULADOS CON G. EPIGAEUM (G15). VALORES DE PESO SECO DE PARTE AEREA (1).

11	18	TIEMPO (días)		52	67
		24	31		
-1.14 a*	-0.52 b	0.07 c	0.54 d	1.20 e	1.53f

Notas (1) y (\*) igual que en TABLA 68.



TABLA 74

EFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON GLOMUS EPIGAEUM (G15 Y G0) Y LA FERTILIZACION FOSFATADA (P) SOBRE EL PESO SECO DE RAICES. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	Peso Seco Raíz (1)
G15	0.52 a*
G0	0.57 b
P	0.58 b

(1) Datos transformados para el análisis estadístico  $(x+1)^{-1}$ .  
Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLA 68.

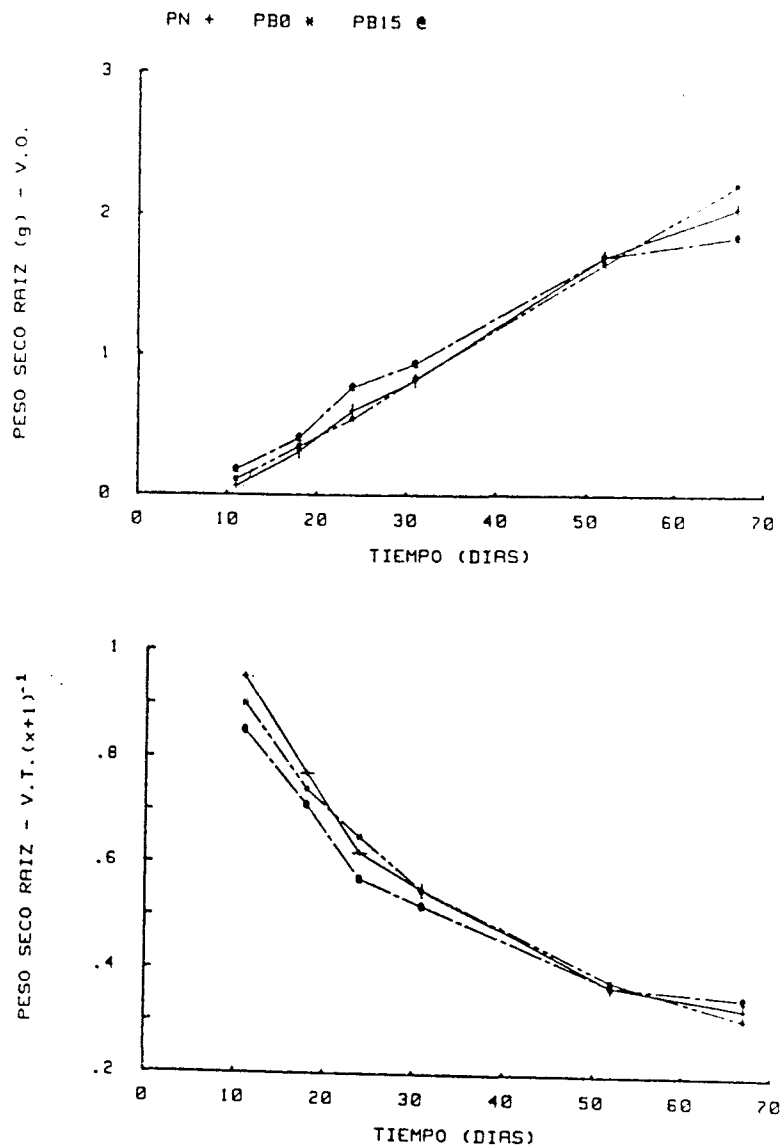


FIGURA 19. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) cuando se adiciona fosfato (P) sobre el peso seco de raíces en plantas de soja.

TABLA 75

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 19  
V.T. (Variable Transformada)

TRATAMIENTO	TIEMPO (días)					
	11	18	24	31	52	67
P B15	B*	A	B	A	A	A
P B	AB	A	A	A	A	A
P N	A	A	AB	A	A	A

Abreviaturas y notas (\*) igual que en tabla 68 y 74.

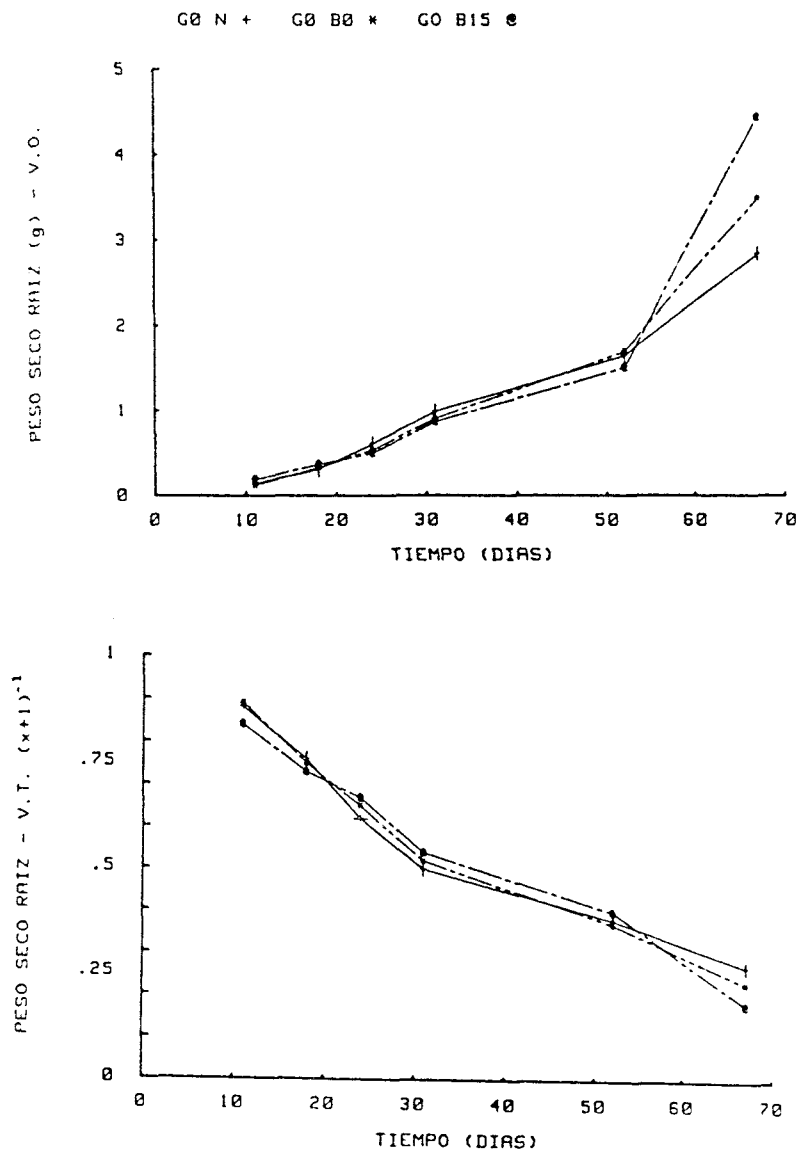


FIGURA 20. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con *Bradyrhizobium* (B15 y B0) y con *Glomus* (G0) sobre el peso seco de raíces en plantas de soja.

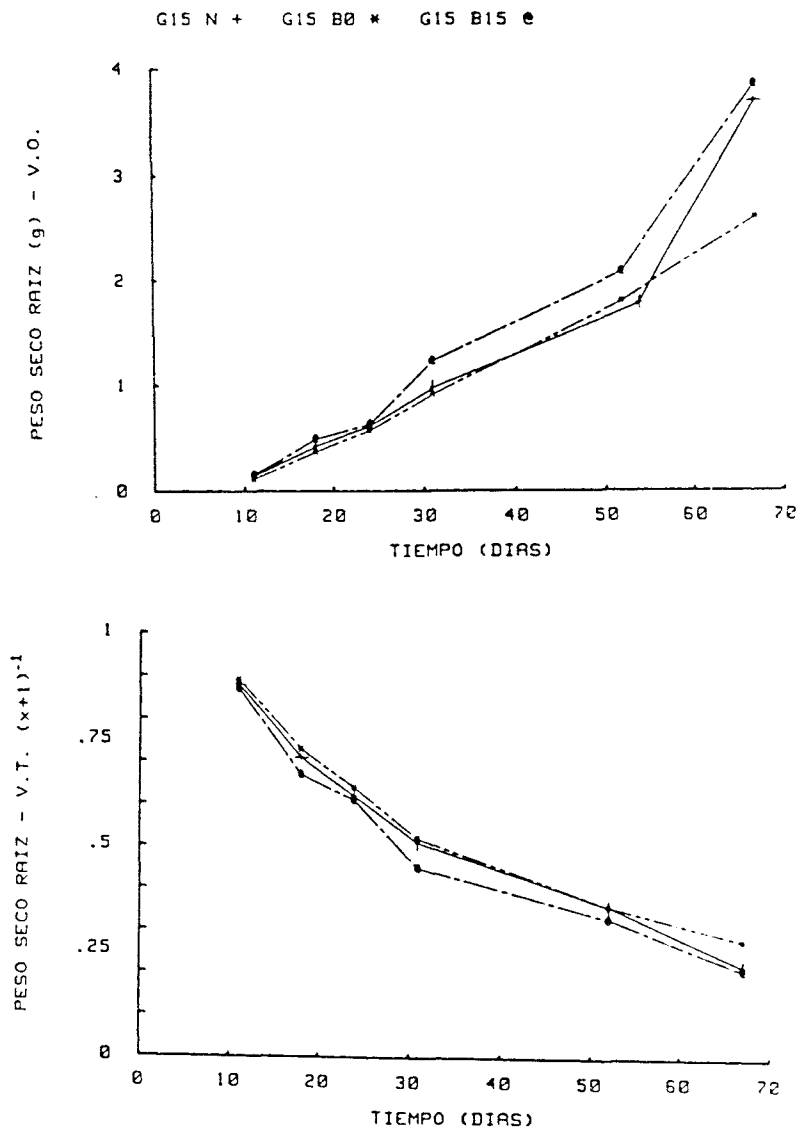


FIGURA 21. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con *Bradyrhizobium* (B15 y B0) y con *Glomus* (G15) sobre el peso seco de raíces en plantas de soja.

TABLA 76

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS CON ADICION DE FOSFATO (P). VALORES DE PESO SECO DE RAICES (1)

TIEMPO(días)					
11	18	24	31	52	67
0.90 a*	0.74 b	0.61 c	0.54 d	0.37 e	0.33 e

Notas (1) y (\*) igual que en TABLA 68 y 74.

5.2.2. Inoculación con G. epigaeum en el momento de la siembra (G0).

Sólo se presentaron diferencias a través del tiempo (TABLA 77) siguiendo un crecimiento lineal.

5.2.3. Inoculación con G. epigaeum a los 15 días desde la siembra (G15).

Cuando se inoculó con el HMAV a los 15 días, el peso seco de las raíces se vió favorecido, en primer lugar, por la inoculación con el co-simbionte obligado, Bradyrhizobium a los 15 días y, en segundo término, por su reemplazo con fertilizante nitrogenado (TABLA 78). Las raíces evolucionaron igual que en 5.2.2. (TABLA 79).

5.3. Concentración de nitrógeno en tallos y hojas.

En este cada la transformación no varió demasiado los datos (FIGURAS 22, 23 Y 24) También aquí el ANOVA detectó interacción y fué necesario analizar cada nivel de fósforo.

5.3.1. Fertilización con fosfato (P).

Dentro de este nivel de fósforo (P) no se presentó interacción pero si diferencias entre los niveles de nitrógeno, donde la inoculación con el Rhizobium a los 15

días (PB15) promovió a menor concentración de nitrógeno (TABLA 80). Las reservas nitrogenadas de las hojas cotiledonales se fueron consumiendo a través del tiempo hasta que las plantas se estabilizaron, como se observa a partir de la evaluación hecha al día 31 desde la siembra (TABLA 81).

#### 5.3.2. Inoculación con G. epigaeum en el momento de la siembra (G0).

Aunque el ANOVA detecta diferencias entre las medias en los diferentes niveles de nitrógeno, la prueba de Tukey no alcanza a detectar estas diferencias. La dinámica de la concentración de nitrógeno a través del tiempo es igual que la mencionada antes en el ítem 5.3.1. (TABLA 82).

#### 5.3.3. Inoculación con G. epigaeum a los 15 días desde la siembra (G15).

Se detectó interacción entre las medias de los niveles de nitrógeno y su evolución a través del tiempo. Hubo tendencia entre el G15 B0 y al G15 N a tener más concentración de nitrógeno (TABLA 83).

#### 5.4. Concentración de fósforo en tallos y hojas.

En las FIGURAS 25, 26 y 27 se observa que la transformación logaritmo se justificó plenamente. Al igual

TABLA 77

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS INOCULADOS CON G. EPIGAEUM (G0). VALORES DE PESO SECO DE RAIZ (1)

TIEMPO (días)					
11	18	24	31	52	67
0.87 a*	0.75 b	0.65 c	0.52 d	0.39 e	0.23 f

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 y 74.



TABLA 78

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON B.JAPONICUM (B) Y G.EPIGAEUM (G15) SOBRE EL PESO SECO DE RAICES. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	Peso Seco Raíz (1)
G15 B15	0.49 b*
G15 B0	0.54 a
G15 N	0.52 ab

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 Y 74.

TABLA 79

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS INOCULADOS CON G. EPIGAEUM (G15). VALORES DE PESO SECO DE RAIZ (1)

TIEMPO (días)					
11	18	24	31	52	67
0.88 a*	0.70 b	0.62 c	0.49 d	0.35 e	0.23 f

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 y 74.

TABLA 80

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON B. JAPONICUM (B) Y ADICION DE FOSFATO (P) SOBRE LA CONCENTRACION DE NITROGENO EN TALLOS Y HOJAS. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	NITROGENO (1)
P B15	1.12 a*
P B0	1.28 b
P N	1.30 b

(1) Datos transformados para el análisis estadístico ( $\ln(x+1)$ )  
 Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLAS 68 y 69.

TABLA 81

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS CON ADICION DE FOSFATO (P). VALORES DE CONCENTRACION DE NITROGENO (1)

11	18	TIEMPO (días)		52	67
		24	31		
2.11 a*	1.69 b	1.22 c	0.90 d	0.86 d	0.86 d

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 80 Y 68.

TABLA 82

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS INOCULADOS CON G.EPIGAEUM (G0). VALORES DE CONCENTRACION DE NITROGENO (1)

	TIEMPO (días)					
	11	18	24	31	52	67
208 a*	1.55 b	1.05 c	0.90 cd	0.96 cd	0.87 d	

Notas (1) igual que en TABLA 80 y (\*) igual que en TABLA 68.

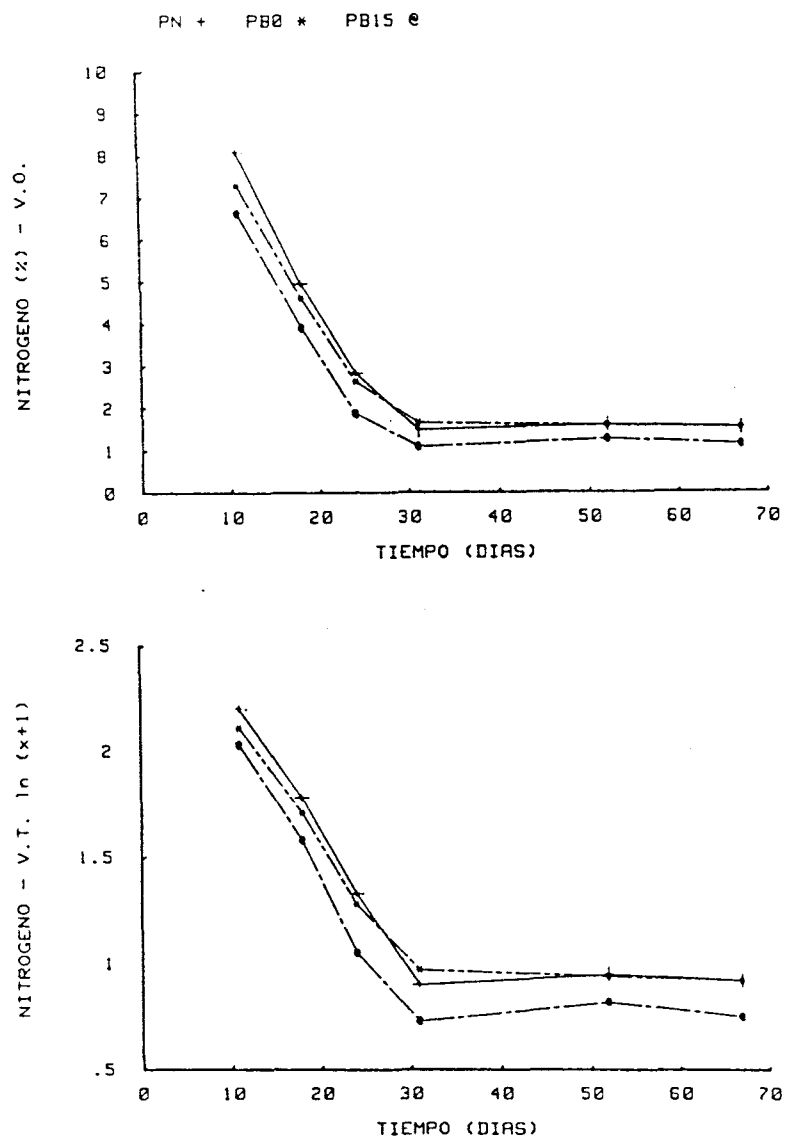


FIGURA 22. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) cuando se adiciona fosfato (P) sobre la concentración de nitrógeno en plantas de soja.

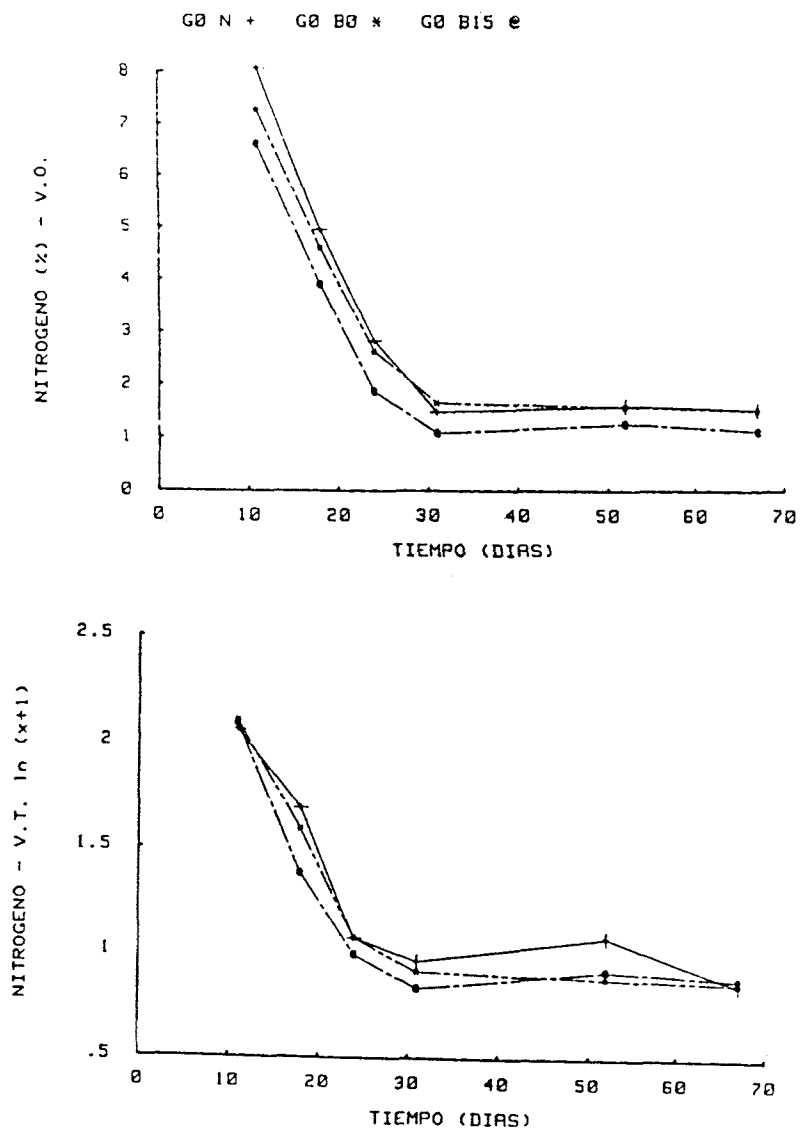


FIGURA 23. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) y con Glomus (G0) sobre la concentración de nitrógeno en plantas de soja.

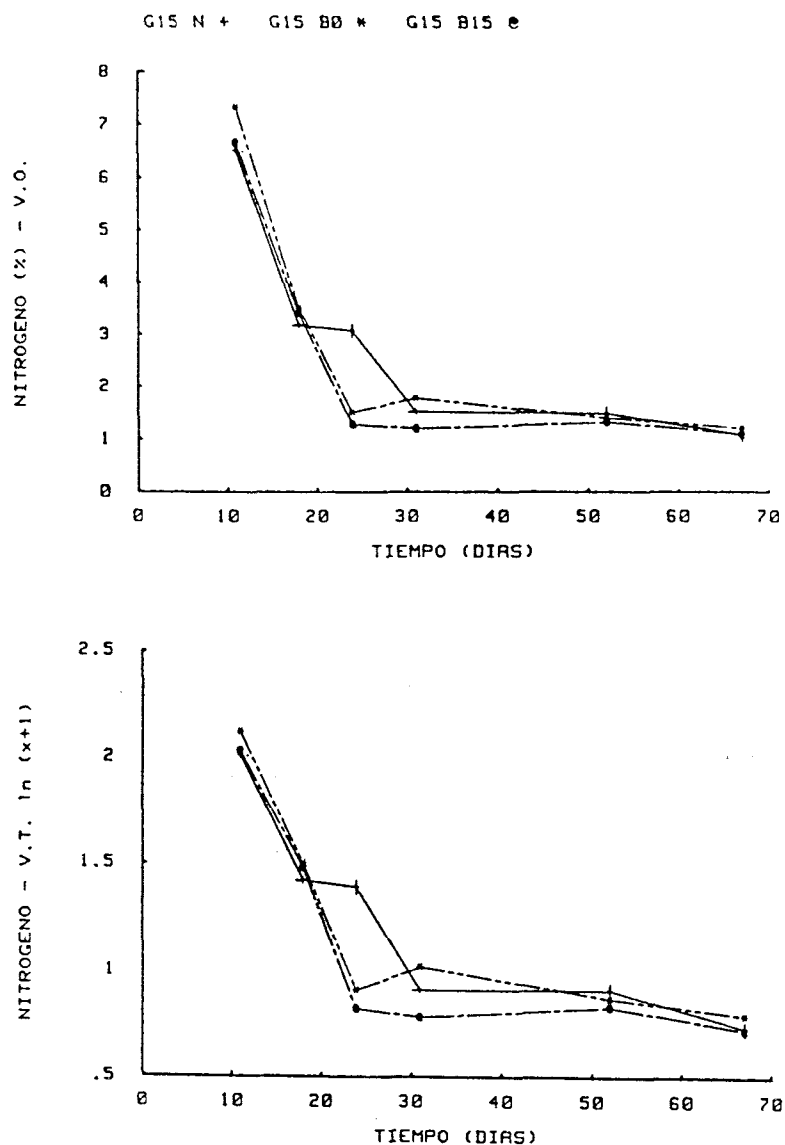


FIGURA 24. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con *Bradyrhizobium* (B15 y B0) y con *Glomus* (G15) sobre la concentración de nitrógeno en plantas de soja.

TABLA 83

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 24  
V.T. (Variable Transformada).

TRATAMIENTO	TIEMPO (días)					
	11	18	24	31	52	67
G15 B15	A*	A	B	B	A	A
G15 B9	A	A	B	A	A	A
G15 N	A	A	A	AB	A	A

Notas (\*) como en TABLAS 68 Y 80.



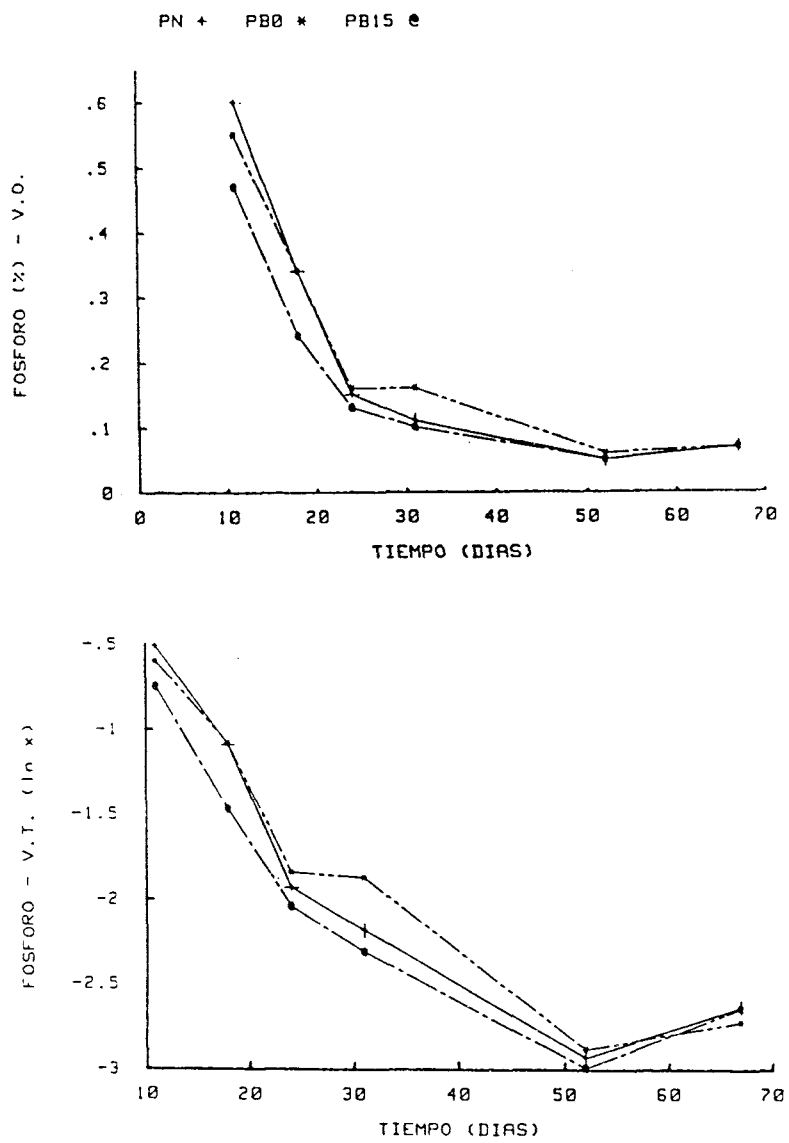


FIGURA 25. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con *Bradyrhizobium* (B15 y B0) cuando se adiciona fosfato (P) sobre la concentración de fósforo en plantas de soja.

que antes en el ANOVA se presentó interacción significativa de los tratamientos a través del tiempo.

#### 5.4.1. Fertilización con fosfato (P).

La media correspondiente a PB15 difiere significativamente de las restantes y hubo, por lo tanto, mayores concentraciones de fósforo si, al fertilizar con fosfato, se inoculó al tiempo cero (PB0) o, cuando además se fertilizó con nitrógeno (PN). (TABLA 84).

La concentración de fósforo de las hojas cotiledonales fué decreciendo igual que para el nitrógeno, y hacia el día 31 también se estabilizó (TABLA 85).

#### 5.4.2. Inoculación con G. epigaeum en el momento de la siembra (G0).

Interactuaron los niveles de nitrógeno a través del tiempo, especialmente se destacaron a los 18 y 24 días donde los tratamientos con la bacteria a tiempo cero (G0 B0) y el fertilizado con nitrógeno (G0 N) fueron superiores significativamente. (TABLAS 86 Y 87).

#### 5.4.3. Inoculación con G. epigaeum a los 15 días desde la siembra (G15).

Solo se presentaron diferencias a través del tiempo,

TABLA 84

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON B. JAPONICUM (B) Y ADICION DE FOSFATO (P) SOBRE LA CONCENTRACION DE FOSFORO EN TALLOS Y HOJAS  
 DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	FOSFORO (1)
P B15	-2.09 a*
P B0	-1.92 b
P N	-1.95 b

Abreviaturas y notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 y 69.

TABLA 85

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS CON ADICION DE FOSFATO (P). VALORES DE CONCENTRACION DE FOSFORO EN TALLOS Y HOJAS (1)

	TIEMPO (días)				
11	18	24	31	52	67
-0.62 a*	-1.21 b	-1.94 c	-2.12 c	-2.93 d	-2.66 e

Notas (1) y (\*) igual que en TABLA 68.

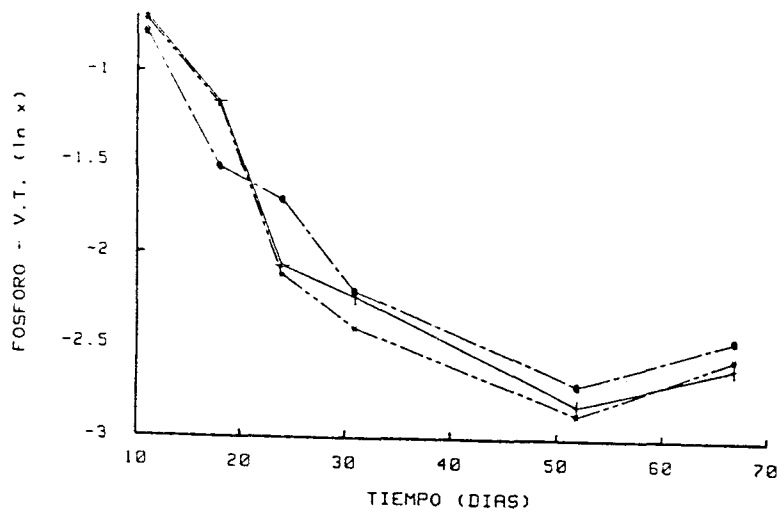
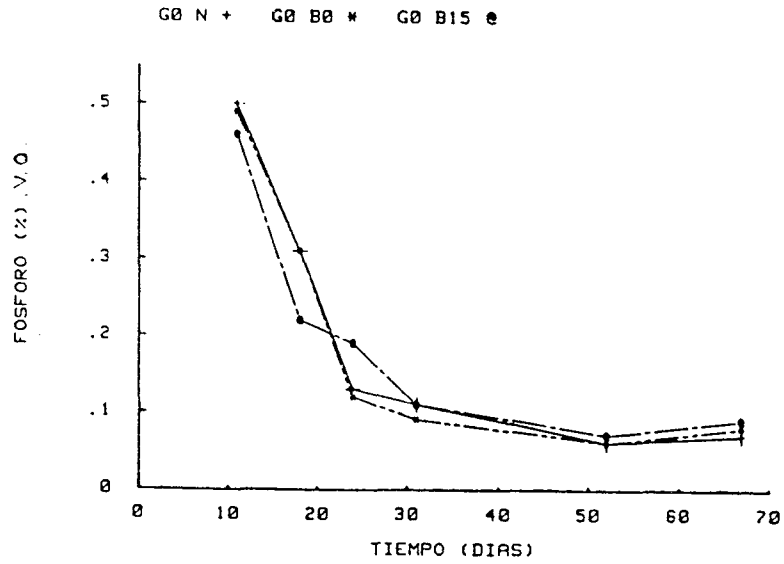


FIGURA 26. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con *Bradyrhizobium* (B15 y B0) y con *Glomus* (G0) sobre la concentración de fósforo en plantas de soja.

TABLA 86

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 26. V.T. (Variable Transformada).

TRATAMIENTO	TIEMPO (días)					
	11	18	24	31	52	67
G0 B15	A*	A	A	A	A	A
G0 B0	A	B	B	A	A	A
G0 N	A	B	B	A	A	A

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLAS 68 Y 69.

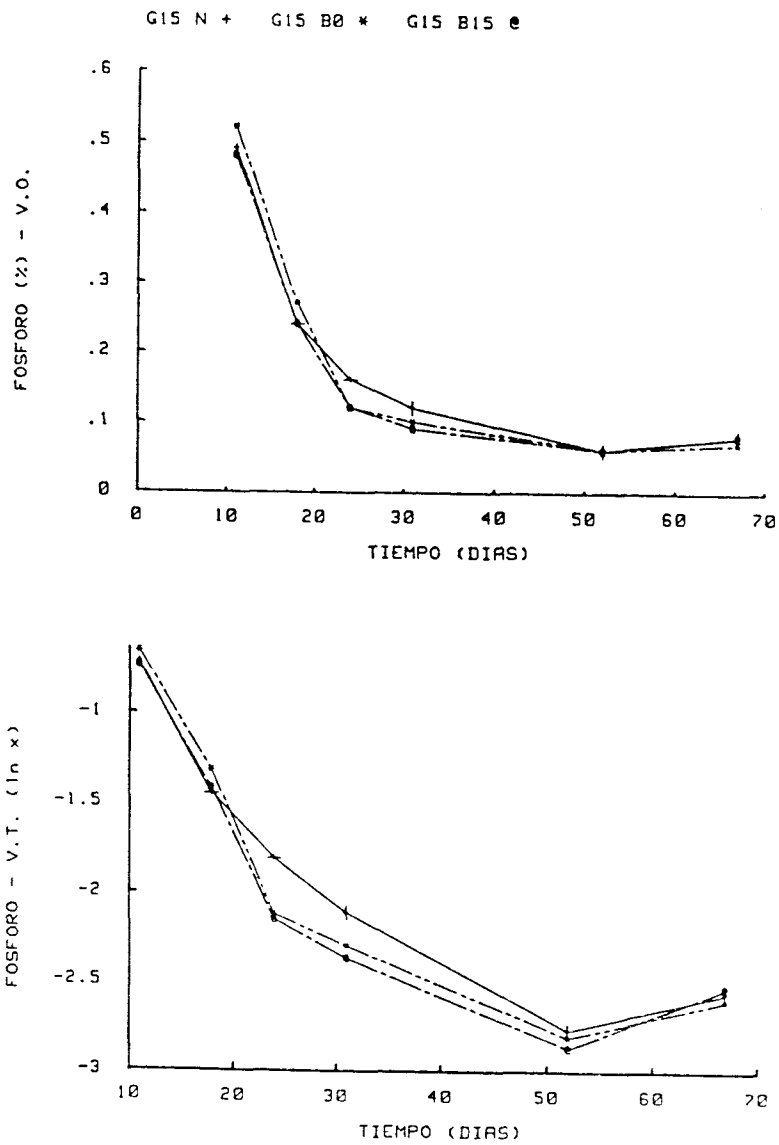


FIGURA 27. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con *Bradyrhizobium* (B15 y B0) y con *Glomus* (G15) sobre la concentración de fósforo en plantas de soja.

TABLA 87

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS INOCULADOS CON G. EPIGAEUM (GO). VALORES DE CONCENTRACION DE FOSFORO EN TALLOS Y HOJAS (1)

						TIEMPO (días)	
11	18	24	31	62	67		
-0.74 a*	-1.30 b	-1.97 c	-2.29 d	-2.80 e	-2.54 d		

Notas (1) y (\*) igual que en TABLA 68.

de manera similar a como se señaló antes para G0 (TABLA 88).

#### 5.5. Concentración de potasio en tallos y hojas.

La transformación homogeneizó ligeramente las medias como puede observarse en la figuras 28, 29 y 30. Volvió a detectarse interacción entre los tratamientos a través del tiempo.

##### 5.5.1. Fertilización con fosfato (P).

Sólo se detectaron diferencias a través del tiempo, pero en una evolución creciente lenta incluso ascendió en la última evaluación (TABLA 89).

##### 5.5.2. Inoculación con *G. epigaeum* en el momento de la siembra (G0).

En términos generales, hubo mayor concentración de potasio para los tratamientos con adición de nitrógeno (G0 N) que para los inoculados con *Bradyrhizobium* (B0 y B15) (TABLA 90).

Con el transcurso del tiempo se fué consumiendo el potasio de las reservas de las plantas, se estacionó entre los 31 y 52 días y aumentó en la última evaluación (TABLA 91).



### 5.5.3. Inoculación con *G. epigaeum* a los 15 días desde la siembra (G15).

En el ANOVA para este nivel, se pusieron en evidencia interacciones de los niveles de nitrógeno a través del tiempo. La prueba de Tukey detectó diferencias entre las medias a los 24 y 31 días, con valores para la concentración de este nutriente superiores para el fertilizado con nitrógeno (G15 N) y comparables entre los inoculados con *Bradyrhizobium* (G15 B15 y G15 B0) en el día 31 (TABLA 92).

### 5.6. Nodulación.

La transformación para el número de nódulos, mejoró sensiblemente la falta de heterogeneidad de varianzas y de normalidad (FIGURAS 31, 32 y 33). En esta variable sólo se compararon los tratamientos inoculados con *Bradyrhizobium* (B0 y B15) y es necesario señalar que los fertilizados con nitrógeno no presentaban nódulos en sus raíces. Volvió a presentarse interacción y fué necesario analizar dentro de cada nivel de fósforo.

#### 5.6.1. Fertilización con fosfato (P).

La nodulación aumentó fundamentalmente entre los días 24 y 31 de evaluación donde el *Bradyrhizobium* inoculado a los 15 días superó al tratamiento donde se lo incorporó desde la siembra, estando a los 31 días el PB15 en el

TABLA 88

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS INOCULADOS CON G. EPIGAEUM (G15). VALORES DE CONCENTRACION DE FOSFORO EN TALLOS Y HOJAS (1)

TIEMPO (días)					
11	18	24	31	52	67
-0.71 a*	-1.40 b	-2.03 c	-2.26 d	-2.57 e	-2.82 f

Notas (1) y (\*) igual que en TABLA 68

TABLA 89

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS CON ADICION DE FOSFATO (P). VALORES DE CONCENTRACION DE FOSFATO EN TALLOS Y HOJAS (1)

						TIEMPO (días)	
11	18	24	31	52	67		
1.06 a*	0.99 ab	0.89 bc	0.71 cd	0.71 cd	0.79 cd		

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 y 80.

TABLA 90

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON B.JAPONICUM (B) Y G. EPIGAEUM (G0), SOBRE LA CONCENTRACION DE POTASIO EN TALLOS Y HOJAS. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	POTASIO (1)
G0 B15	0.73 a*
G0 B0	0.77 ab
G0 N	0.80 b

Abreviaturas igual que en TABLA 68  
 Notas (1) y (\*) igual que en TABLA 80.

TABLA 91

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS INOCULADOS CON G. EPIGAEUM (G0). VALORES DE CONCENTRACION DE POTASIO EN TALLOS Y HOJAS (1)

	TIEMPO (días)				
11	18	24	31	52	67
1.03 a*	0.89b	0.75 c	0.59 d	0.59 d	0.76 c

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 y 80.

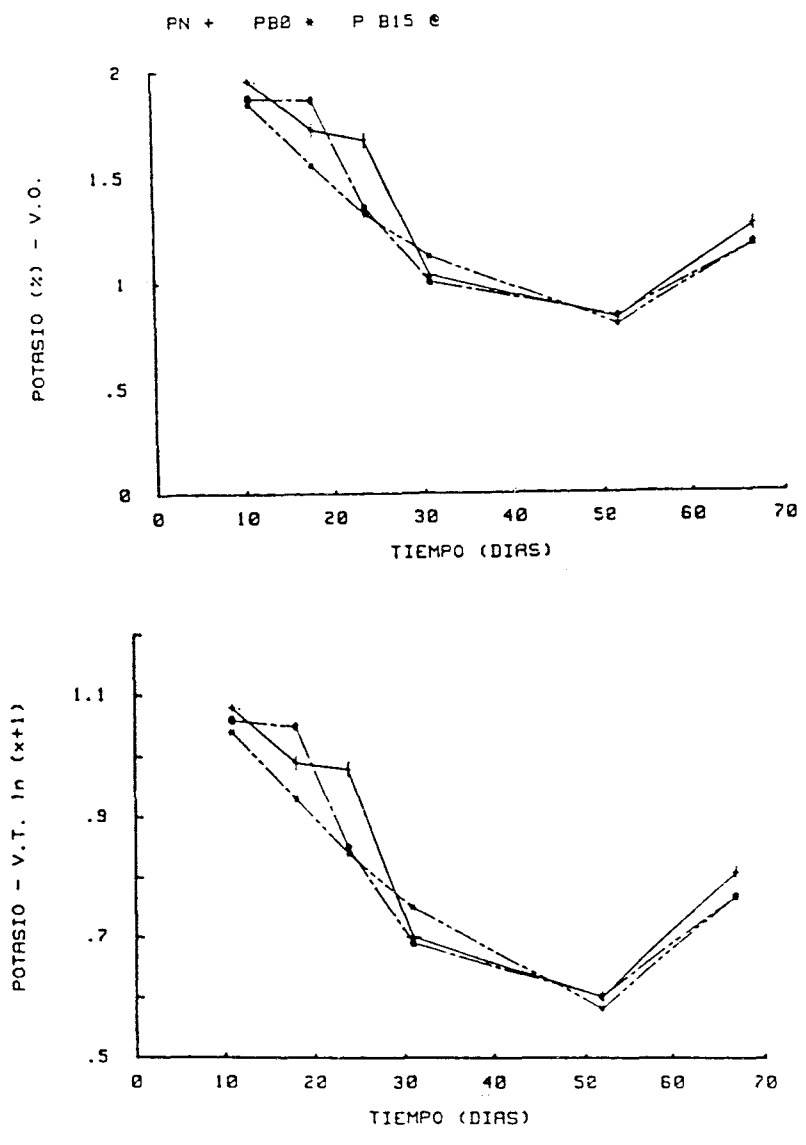


FIGURA 28. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) cuando se adiciona fosfato (P) sobre la concentración de potasio en plantas de soja.

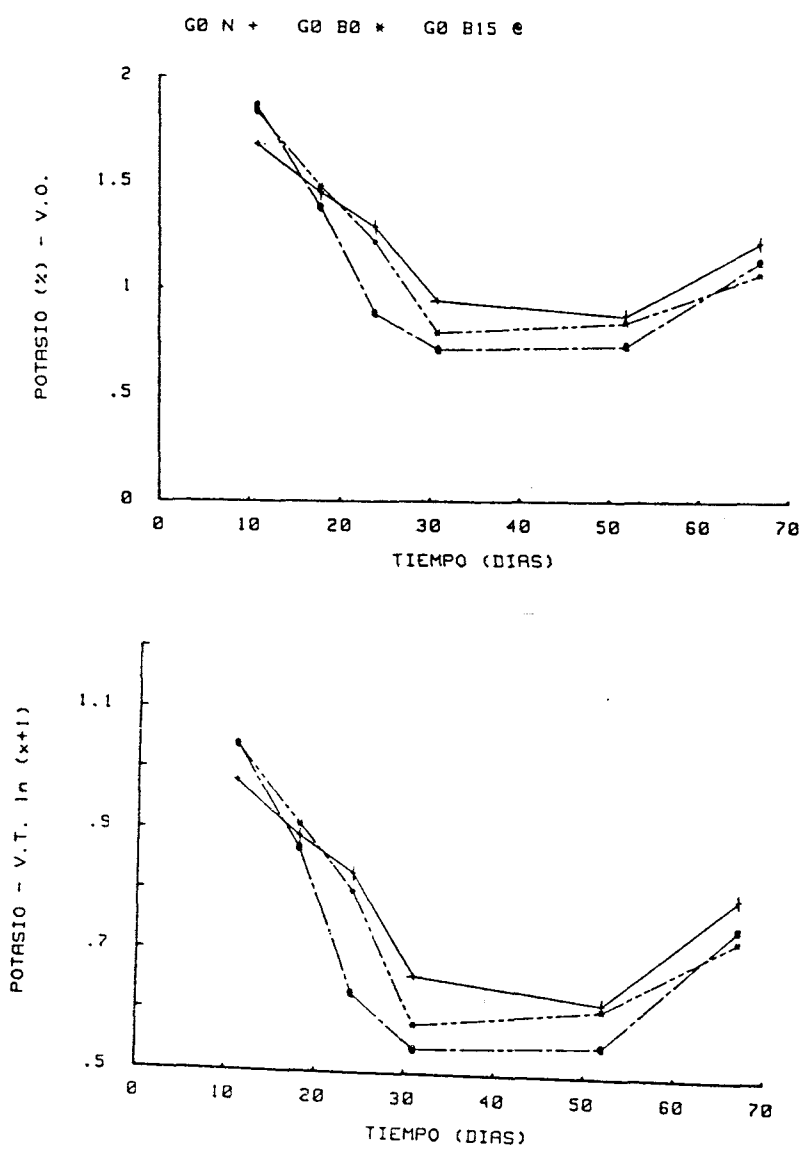


FIGURA 29. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) y con Glomus (G0) sobre la concentración de potasio en plantas de soja.

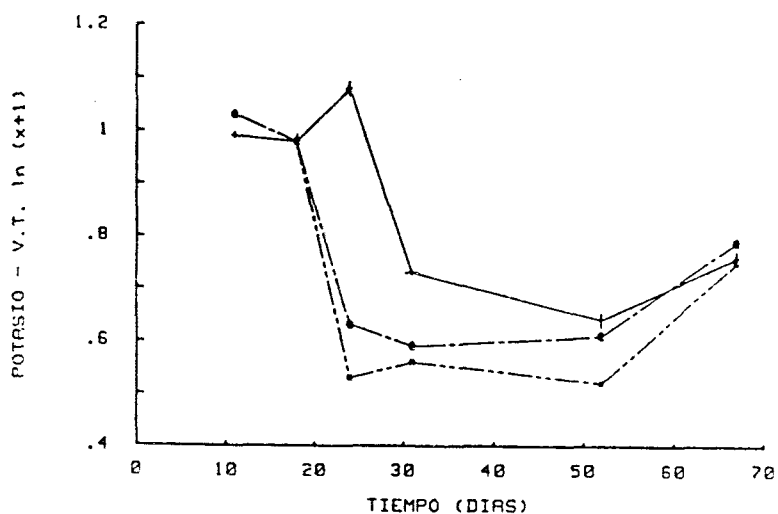
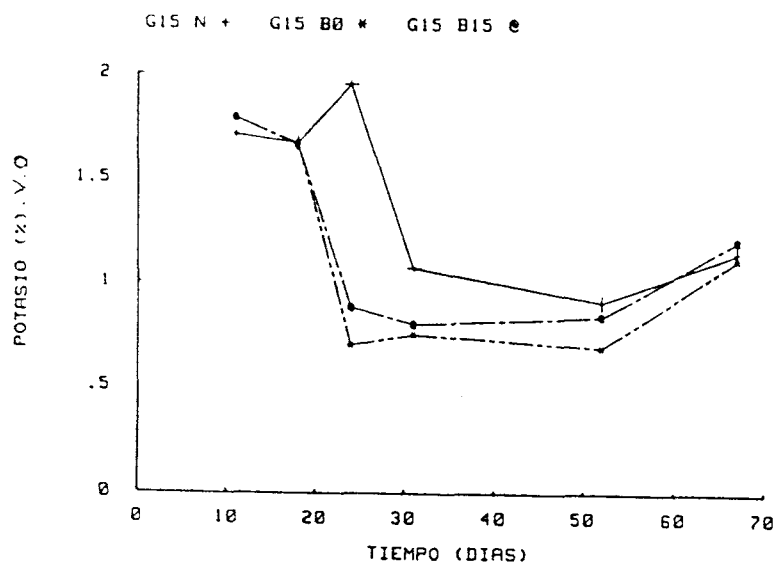


FIGURA 30. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) y con Glomus (G15) sobre la concentración de potasio en plantas de soja.

TABLA 92

ANALISIS ESTADISTICOS DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 30  
V.T. (Variable Transformada).

TRATAMIENTO	TIEMPO (días)					
	11	18	24	31	52	67
G15 B15	A*	A	A	AB	A	A
G15 B0	A	A	A	B	A	A
G15 N	A	A	B	A	A	A

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLAS 68 Y 80.



límite de la significancia (DMS= 3.41) (TABLA 93).

5.6.2. Inoculación con *Glomus epigaeum* en el momento de la siembra (G0).

Al igual que en la fertilización con fosfato, se detectó interacción entre los dos momentos de inoculación con *Bradyrhizobium* y existió tendencia a que la nodulación fuera mayor cuando el *Rhizobium* se inoculó a los 15 días (TABLA 94).

5.6.3. Inoculación con *Glomus epigaeum* a los 15 días desde la siembra (G15).

Hubo mayor número de nódulos cuando se inoculó el *Bradyrhizobium* a los 15 días y fué significativa a los 18 y 31 días (TABLA 95).

5.7. Fructificación.

La cosecha de vainas, realizada a los 67 días, se puede decir, en un sentido global, que presentó un mayor número cuando se inoculó con HMAV (G15 y G0) (TABLA 96). Así mismo, se puso de manifiesto el efecto estimulante del HMAV, en mayor cuantía cuando se incorporó el otro simbionte, *Bradyrhizobium*, a los 15 días que desde la siembra (TABLA 97 Y FIGURA 34). No se detectaron diferencias entre las medias cuando se fertilizó con

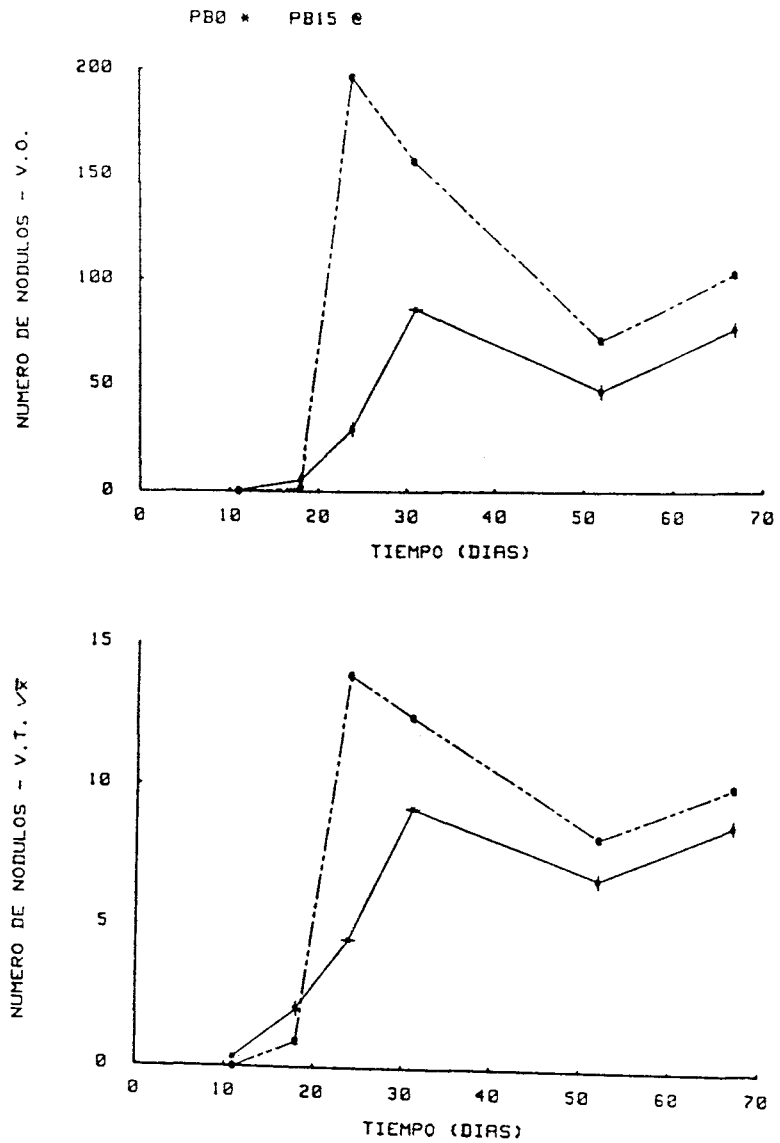


FIGURA 31. Efecto de la inoculación con *Bradyrhizobium* (B15 y B0) cuando se adiciona fosfato (P) sobre la nodulación en plantas de soja.

TABLA 93

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 31.  
V.T. (Variable Transformada).

TRATAMIENTO	TIEMPO (días)					
	11	18	24	31	52	67
P B15	-	A*	A	A	A	A
P B0	-	A	B	A	A	A

Notas (\*) igual que en TABLA 68 .

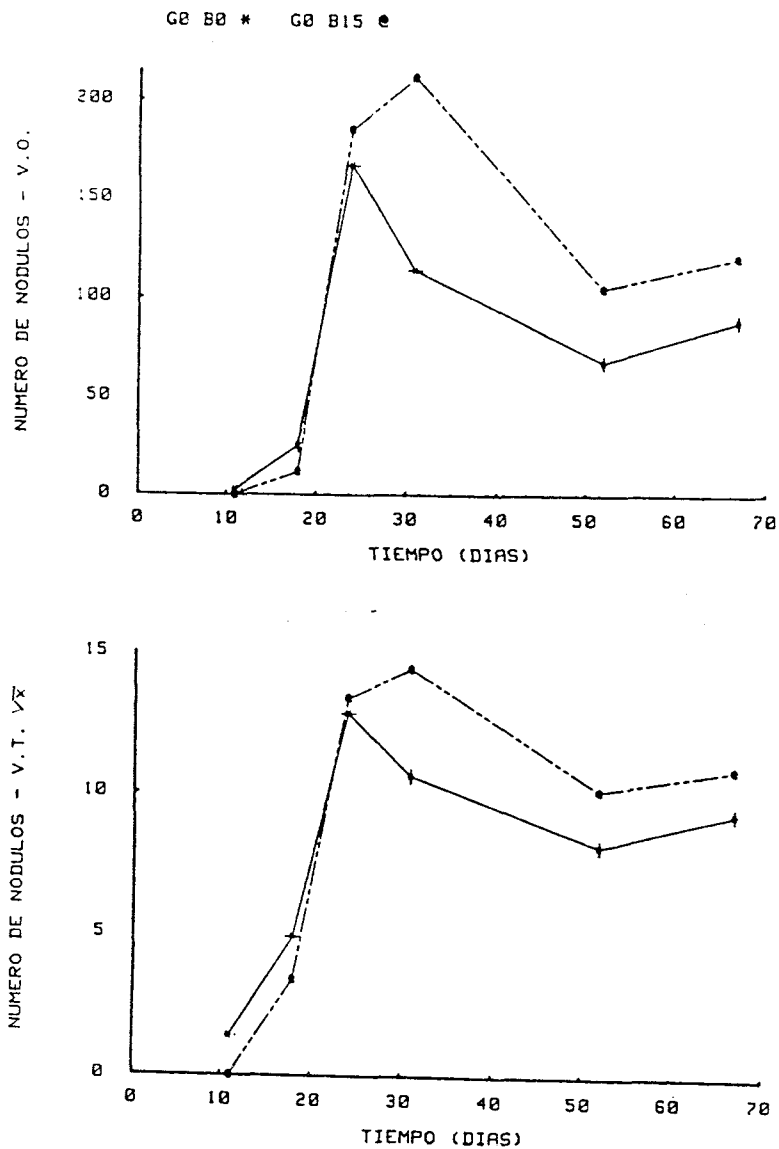


FIGURA 32. Efecto de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) y con Glomus (G0) sobre la nodulación en plantas de soja.

TABLA 94

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 32  
V.T. (Variable Transformada).

TRATAMIENTO	TIEMPO (días)					
	11	18	24	31	52	67
G0 B15	-	A*	A	A	A	A
G0 B0	-	A	A	B	A	A

Notas (\*) igual que en TABLA 68.

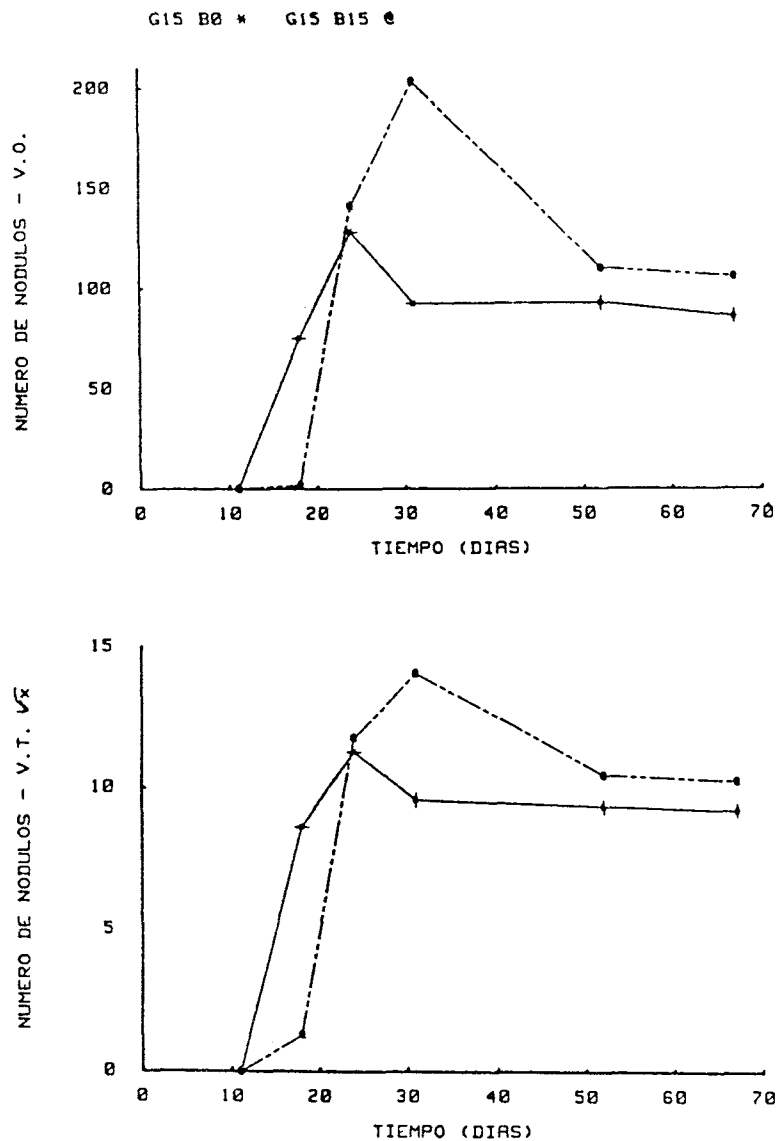


FIGURA 33. Efecto de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) y con Glomus (G15) sobre la nodulación en plantas de soja.

TABLA 95

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS GRAFICADO EN LA FIGURA 33.  
V.T. (Variable Transformada)

TRATAMIENTO	TIEMPO (días)					
	11	18	24	31	52	67
G15 B15	-	A*	A	A	A	A
G15 B0	-	B	A	B	A	A

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLA 68

TABLA 96

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON G. EPIGAEUM (G15 y G0) Y DE LA ADICION DE NITROGENO (N), SOBRE EL NUMERO DE VAINAS. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION.

TRATAMIENTO	Nro. VAINAS (1)
G15	2,52 a*
G0	2,53 a*
N	2,11 b

Nota (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 y 80.

TABLA 97

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON B. JAPONICUM (B) Y G. EPIGAEUM (G0), SOBRE EL NUMERO DE VAINAS. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION.

TRATAMIENTO	Nro. VAINAS (1)
G0 B15	2.77 a*
G0 B0	2.46 a
G0 N	1.99 b

Nota (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 y 80.

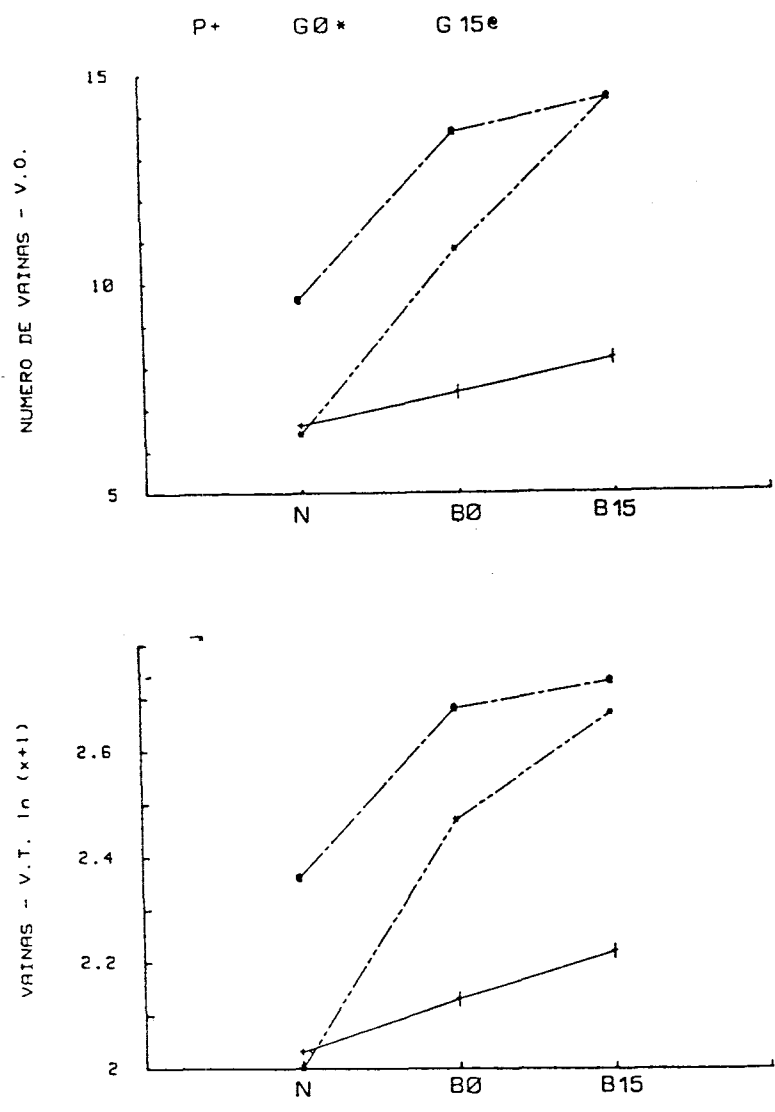


FIGURA 34. Efecto de la adición de nitrógeno (N) y de fosfato (P) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) y con Glomus (G15 y G0) sobre la producción de vainas en plantas de soja. Evaluación a los 67 días desde la siembra.

fósforo ni cuando se inoculó la micorriza a los 15 días.

#### 5.8. Micorrización.

La transformación  $\text{arc sen } \sqrt{x}$  mejoró la heterogeneidad de varianzas como se destaca en las FIGURAS 35 y 36. Generalizando, el *Glomus* inoculado inicialmente tuvo más micorrización (TABLA 98). También en esta variable el ANOVA detectó interacción y fué necesario estudiar en los distintos niveles de fósforo. Es útil destacar que los tratamientos donde se adicionó fosfato (P) no presentaban micorrización.

##### 5.8.1. Inoculación con *Glomus epigaeum* en el momento de la siembra (G0).

Se observó sinergismo entre el *Bradyrhizobium* (B) y las micorrizas, estimulando más el B0 que el B15. (TABLA 99). Cuando se analizaron los datos donde aparecieron cada una de las estructuras del ciclo de vida del hongo en las raíces, se destacó la cantidad de arbusculos cuando se inocularon los dos endosimbiontes en el momento de la siembra (B0 G0) y el mayor porcentaje de vesículas cuando el HMAV estuvo establecido y se inoculó tardíamente con *Bradyrhizobium* (B15 G0) (TABLA 100).



#### 5.8.2. Inoculación con Glomus epigaeum a los 15 días desde la siembra (G15).

Cuando el HMAV se incorporó a los 15 días, el tratamiento con adición de nitrógeno se homologó al del inoculado con Bradyrhizobium inicialmente (G15 B0) al menos durante los primeros días (FIGURA 36.). La micorrización posterior fué semejante a la de G0 pero colonizó menos las raíces de la soja.

En los porcentajes correspondientes a las diferentes estructuras formadas en las raíces, fué muy baja la cantidad de arbusculos y vesículas cuando se fertilizó con nitrógeno. Obsérvese la similitud entre inocular al tiempo cero o a los 15 días con la bacteria sobre la cantidad de micorrizas (TABLA 102).

### 6. ESTUDIO DE LAS INTERACCIONES ENTRE BRADYRHIZOBIUM, GLOMUS Y GLYCINE MAX CV HOOD 75 EN UN SUELO DE CASTELAR , BUENOS AIRES.

Los datos han sido analizados estadísticamente para cada variable, siguiendo una serie de etapas, como en el ensayo de interacción anteriormente comentado. También en este caso, aquellos datos que no presentan significancia sólo se comentarán en el texto sin abundar en detalles.

#### 6.1. Peso seco de tallos y hojas.

En un sentido global, la inoculación con hongos de

TABLA 98

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON GLOMUS EPIGAEUM (G0 Y G15)  
 SOBRE LA MICORRIZACION. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS  
 DE EVALUACION.

TRATAMIENTO	MICORRIZACION (1)
G15	11.92 b*
G0	19.40 a

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLA 68.

Nota (1) igual que en TABLA 2.

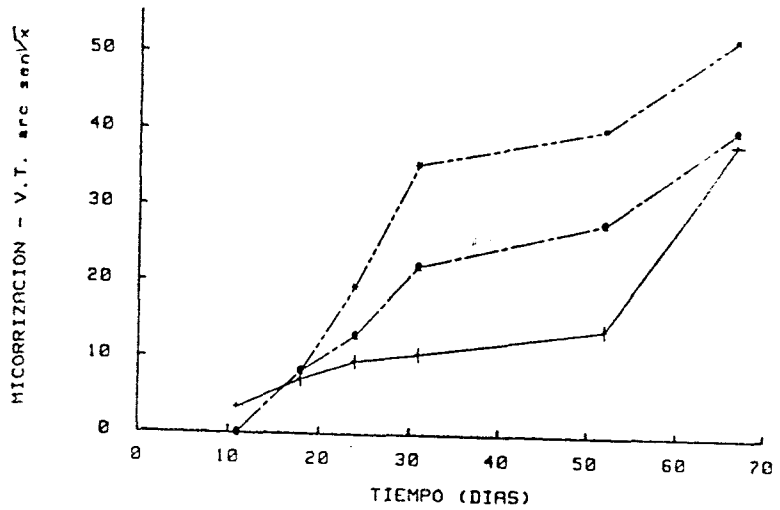
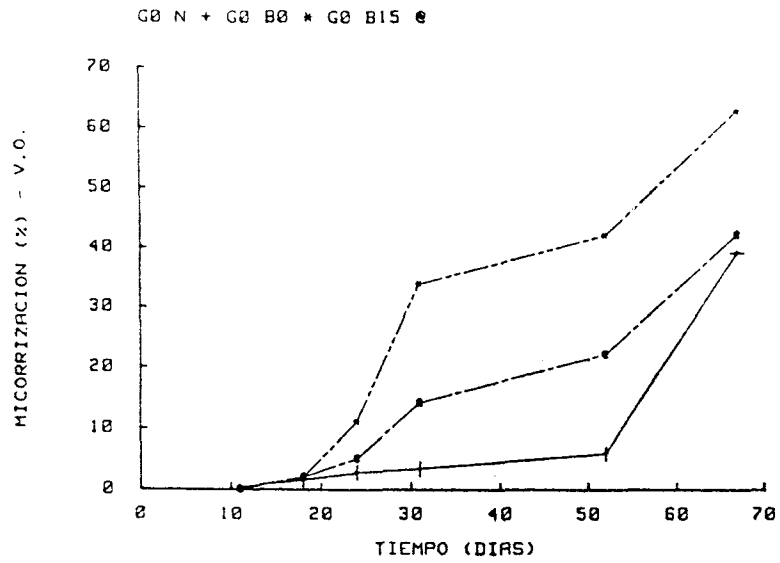


FIGURA 35. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) y con Glomus (G0) sobre la micorrización en plantas de soja.

TABLA 99

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 35  
V.T. (Variable Transformada).

TRATAMIENTO	TIEMPO (días)					
	11	18	24	31	52	67
G0 B15	A*	A	AB	B	B	B
G0 B0	A	A	A	A	A	A
G0 N	B	A	B	C	C	C

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLAS 68 Y 69.

TABLA 100

EXPRESION EN PORCENTAJE DE LAS DIFERENTES ESTRUCTURAS MICORRICICAS EVALUADAS A TRAVES DEL TIEMPO CUANDO SE INCORPORA EL HMAV INICIALMENTE (GO).

TIEMPO (Días)	N-GO				BO GO				B15 GO			
	Ap*	HE	A	V	Ap	HE	A	V	Ap.	HE	A	V
11	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	0.7	0.2	0.5	0.2	1.3	0.2	0.3	0.2	1.3	0.7	0	0
24	0.8	1.2	0.7	0	2.3	0.3	7.3	1.0	1.3	3.2	0.5	0
31	1.0	0.2	1.8	1.3	2.8	0.3	28.0	2.7	5.8	3.3	2.3	2.7
52	2.2	1.8	1.3	0.5	3.3	3.0	32.7	3.2	9.7	3.7	6.0	2.8
67	8.2	5.0	16.8	5.2	5.3	2.5	50.7	4.6	9.7	5.4	7.4	19.8

Nota (\*) Ap=apresorio; HE=hifas enrolladas; A=arbúsculos  
V=vesículas. Demas abreviaturas como en TABLAS 68 y 69.

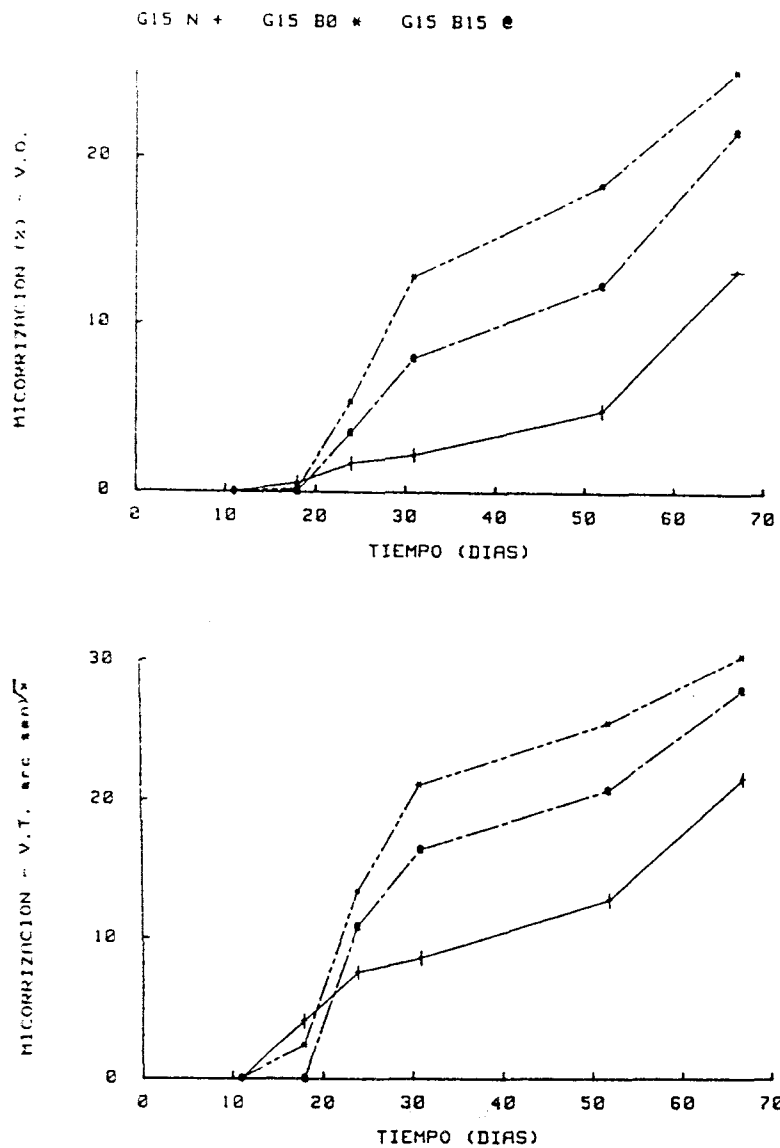


FIGURA 36. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con *Bradyrhizobium* (B15 y B0) y con *Glomus* (G15) sobre la micorrización en plantas de soja.

TABLA 101

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 36  
V.T. (Variable Transformada)

TRATAMIENTO	TIEMPO (días)					
	11	18	24	31	52	67
G15 B15	A*	B	C	B	B	A
G15 B0	A	A	A	A	A	A
G15 N	A	A	B	C	C	B

Abreviaturas y notas (\*) como en TABLAS 68 y 69.

TABLA 102

EXPRESION EN PORCENTAJE DE LAS DIFERENTES ESTRUCTURAS  
MICORRICICAS EVALUADAS A TRAVES DEL TIEMPO CUANDO SE INCORPORA  
EL HMAV INICIALMENTE (G0)

TIEMPO (Días)	N G15				B0 G15				B15 G15			
	Ap	HE	A	V	Ap	HE	A	V	Ap	HE	A	V
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	0.5	0	0	0	0.2	0	0	0	0	0	0	0
24	0.7	0.3	0.7	0	2.7	0.7	2	0	2.2	0.7	0.7	0
31	2.2	0	0	0	7.7	0.7	3.3	1.2	4.0	0.7	1.9	1.3
52	3.7	1.2	0	0	9.7	0.7	3.0	5.0	3.7	3.3	3.0	2.3
67	3.6	3.5	4.8	1.3	9.0	2.0	4.8	9.2	5.2	3.3	5.4	7.6

Abreviaturas igual que en TABLA 100

las micorrizas, aumentaron la producción de materia seca, siendo más efectivo incorporar el *Glomus epigaeum* a tiempo inicial (G0) (TABLA 103).

Desde el mismo punto de vista general, el *Bradyrhizobium* inoculado más tardíamente (B15) contribuyó a un mayor desarrollo de la soja que cuando se lo inoculó inicialmente (B0) (TABLA 104).

Cuando los efectos se estudiaron más detalladamente y si se tienen en cuenta las interacciones entre los niveles de nitrógeno, fósforo y evaluaciones, el análisis dentro de cada nivel de fósforo (P, G0 y G15) dió los siguientes resultados.

#### 6.1.1. Fertilización con fosfato (P).

No se detectaron diferencias entre los niveles de nitrógeno a través del tiempo ni tampoco entre las medias (FIGURA 37). El crecimiento fué lineal (TABLA 105).

#### 6.1.2. Inoculación con *Glomus epigaeum* en el momento de la siembra (G0)

Se presentó interacción entre los niveles de nitrógeno y evaluaciones. La inoculación con *Bradyrhizobium* (B0 y B15) produjo aumentos significativos en materia seca (TABLA 106). En cada momento de la evaluación se puso en evidencia el efecto estimulante de las bacterias (FIGURA 38 Y TABLA 107).

TABLA 103

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON G. EPIGAEUM (G0 Y G15) Y LA FERTILIZACION FOSFATADA (P) SOBRE EL CRECIMIENTO DE LA SOJA.  
 DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	Peso Seco P. Aérea (1)
G15	0.69 b*
G0	0.84 a
P	0.52 c

Abreviaturas y notas (1) y (\*) como en TABLA 68.



TABLA 104

EFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON B. JAPONICUM (B0 Y B15) Y FERTILIZACION NITROGENADA (N) SOBRE EL CRECIMIENTO DE LA SOJA  
 DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	Peso Seco P.Aérea (1)
B15	0.77 a*
B0	0.70 b
N	0.59 c

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 y 69

TABLA 105

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS FERTILIZADOS CON FOSFATO. VALORES DE PESO SECO DE PARTE AEREA(1)

TIEMPO (días)		
20	40	60
-0.63 a*	0.79 b	1.41 c

Notas (1) y (\*) igual que en TABLA 68.

TABLA 106

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON BRADYRHIZOBIUM (B) Y GLOMUS EPIGAEUM (GO) SOBRE EL PESO SECO DE PARTE AEREA. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	Peso Seco P. Aérea (1)
GO B15	1.04 a*
GO B0	0.93 a
GO N	0.56 b

Abreviaturas y notas (1) y (\*) como en TABLA 68

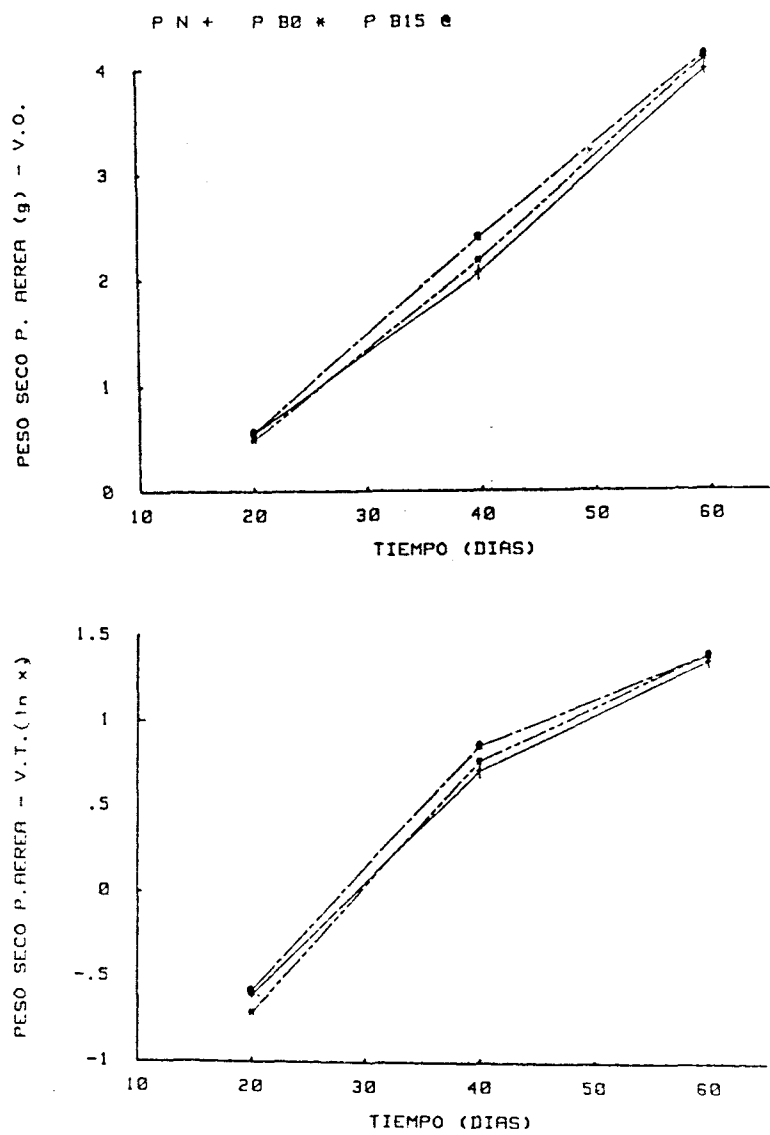


FIGURA 37. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) cuando se adiciona fosfato (P) sobre el peso seco de parte aérea en plantas de soja.

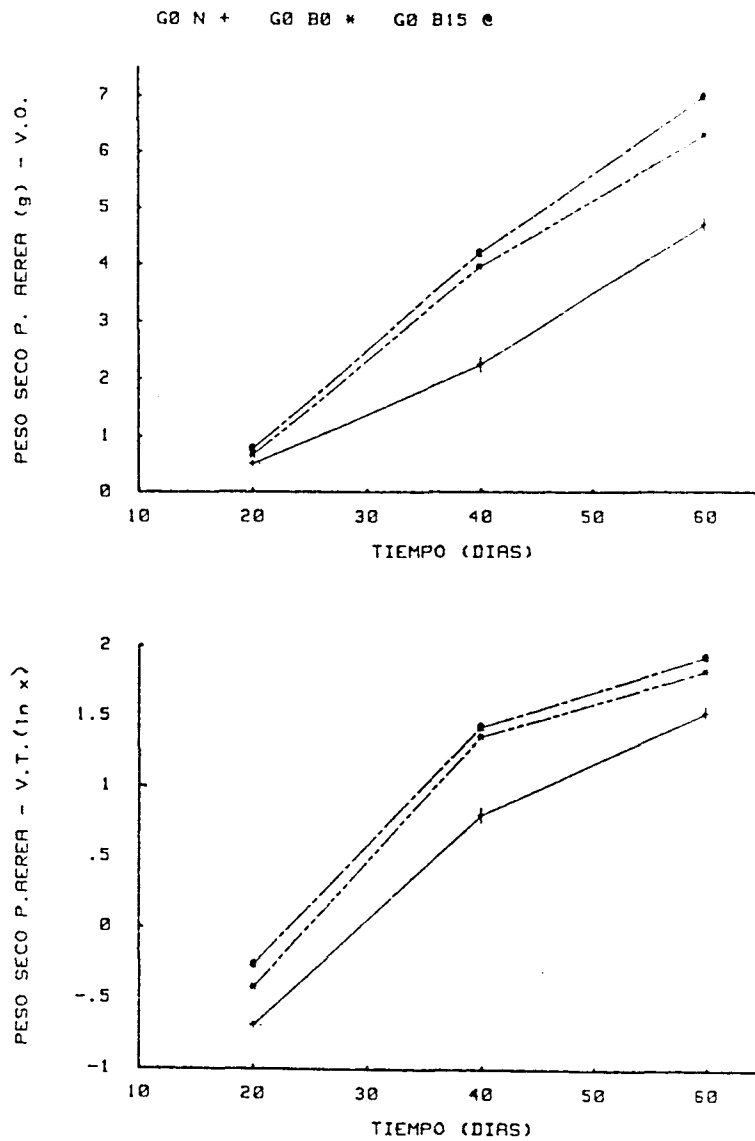


FIGURA 38. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) y con Glomus (G0) sobre el peso seco de parte aérea en plantas de soja.

TABLA 107

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 38  
V.T. (Variable transformada)

Tratamiento	TIEMPO (días)		
	20	40	60
G0 B15	A*	A	A
G0 B0	B	A	A
G0 N	C	B	B

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLA 68

### 6.1.3. Inoculación con *Glomus epigaeum* a los 15 días desde la siembra (G15).

Sólo se detectaron interacciones significativas en los niveles de nitrógeno en la primera evaluación donde el *Bradyrhizobium* incorporado a los 15 días (B15), al igual que la fertilización nitrogenada (N), produjeron aumentos en la materia seca (FIGURA 39 Y TABLA 108).

### 6.2. Peso seco de raíces.

La transformación de la variable fue adecuada porque disminuyó la heterogeneidad de los datos (FIGURAS 40, 41 Y 42). En un sentido general, la inoculación con el HMAV al tiempo inicial (G0) produjo el mayor peso de raíces (TABLA 109), como así también la bacteria a los 15 días (B15) (TABLA 110).

Se analizaron los niveles de fósforo por separado debido a la interacción detectada entre éstos y el tiempo de las evaluaciones.

#### 6.2.1. Fertilización con fosfato (P).

Hubo interacción en los diferentes momentos de evaluación invirtiéndose los efectos de la segunda y última evaluación (TABLA 111). El crecimiento fué lineal a través del tiempo (TABLA 112).

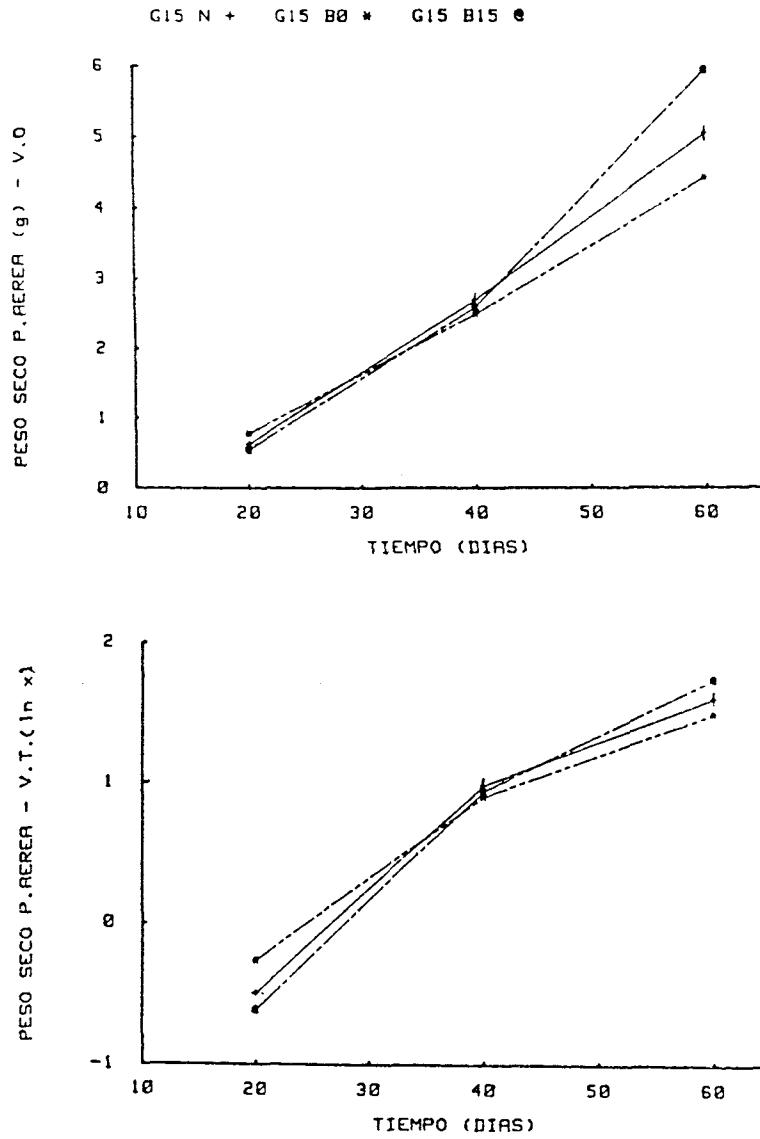


FIGURA 39. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con *Bradyrhizobium* (B15 y B0) y con *Glomus* (G15) sobre el peso seco de parte aérea en plantas de soja.

TABLA 108

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 39  
V.T. (Variable Transformada)

Tratamiento	TIEMPO (días)		
	20	40	60
G15 B15	A*	A	A
G15 B0	B	A	A
G15 N	A	A	A

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLA 68

TABLA 109

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON G. EPIGAEUM (G0 Y G15) Y DE LA FERTILIZACION FOSFATADA (P) SOBRE EL PESO SECO DE RAIZ  
 DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	Peso Seco Raíz (1)
B15	0.41 a*
B0	0.42 ab
N	0.44 b

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 y 74.



TABLA 110

EFEECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON B. JAPONICUM (B0 Y B15) Y FERTILIZACION NITROGENADA (N) SOBRE EL PESO SECO DE RAIZ. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION.

TRATAMIENTO	Peso Seco Raíz (1)
B15	0.41 a*
B0	0.42 ab
N	0.44 b

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 y 74

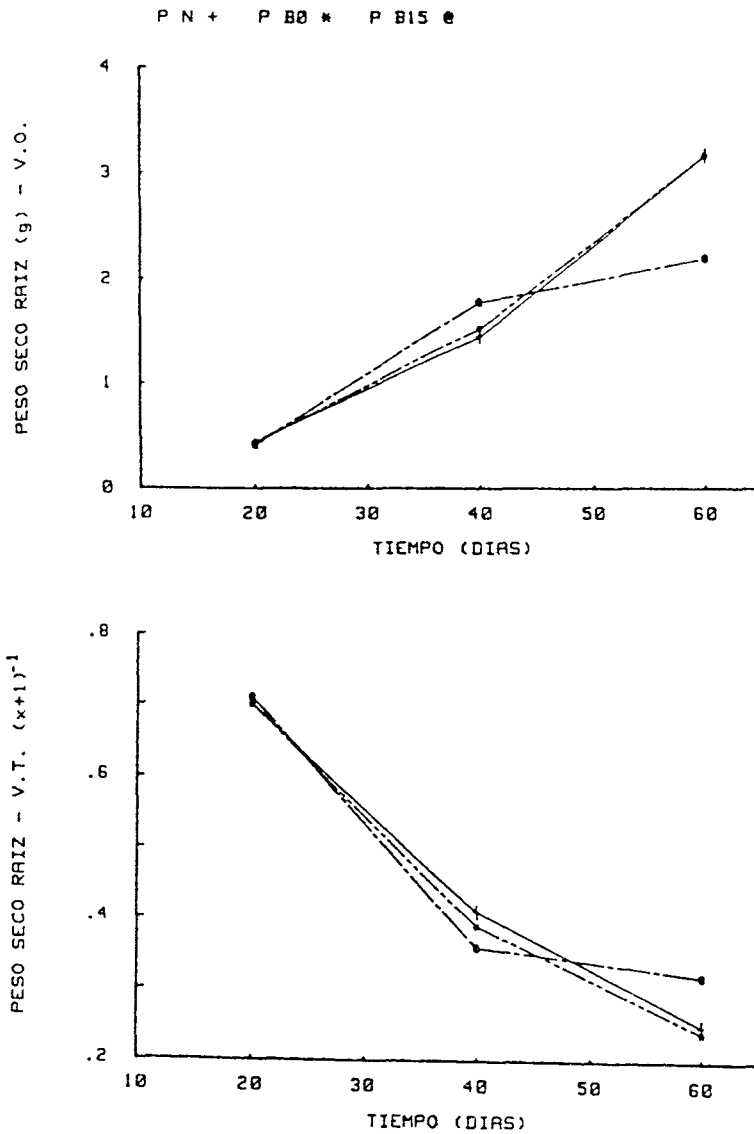


FIGURA 40. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) cuando se adiciona fosfato (P) sobre el peso seco de raíces en plantas de soja.

TABLA 111

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 40  
V.T. (Variable Transformada)

Tratamiento	TIEMPO (días)		
	20	40	60
P B15	A*	A	B
P B0	A	B	A
P N	A	B	A

Abreviaturas y notas (\*) como en TABLAS 68 y 74

TABLA 112

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS FERTILIZADOS CON FOSFATO (P). VALORES DE PESO SECO DE RAICES (1)

TIEMPO (días)		
20	40	60
0.70 a*	0.39 b	0.27 c

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 y 74.

### 6.2.2. Inoculación con Glomus epigaeum en el momento de la siembra (G0).

Cuando la micorriza estuvo instalada desde el inicio del crecimiento de las plantas, las bacterias promovieron a un mayor peso seco de raíces (TABLA 113). En cada momento de evaluación también se verificó esta tendencia (FIGURA 41 Y TABLA 114). Las raíces siguieron un crecimiento lineal (TABLA 115).

### 6.2.3. Inoculación con Glomus epigaeum a los 15 días desde la siembra (G15).

El menor peso seco de raíces se obtuvo con el Bradyrhizobium inoculado inicialmente (B0) (TABLA 116), esto también se observó a los 40 días (FIGURA 42 Y TABLA 117) y hubo tendencia a que fuera mayor cuando la bacteria se inoculó a los 15 días (B15). El crecimiento fué lineal a través del tiempo (TABLA 118).

### 6.3. Concentración de nitrógeno.

La transformación homogeneizó las varianzas (FIGURA 43, 44 Y 45) y las interacciones detectadas en el ANOVA hicieron necesario el análisis para cada nivel del fósforo. Las mayores concentraciones de nitrógeno se obtuvieron con el HMAV inoculado inicialmente (G0) (TABLA 119). No hubo diferencias entre los niveles de nitrógeno (B15, B0 y N).

### 6.3.1. Fertilización con fosfato (P).

Dentro de este nivel de fósforo, la inoculación con la bacteria inicialmente fué la que más favoreció la concentración de nitrógeno (TABLA 120). Esta misma tendencia se verificó en cada momento de evaluación (FIGURA 43 Y TABLA 121). No hubo variaciones en las concentraciones de nitrógeno a través del tiempo.

### 6.3.2. Inoculación con *Glomus epigaeum* en el momento de la siembra (G0).

No existieron diferencias entre las medias de los niveles de nitrógeno pero, se detectaron interacciones entre éstos y los tiempos de evaluación. Pudo observarse una ligera tendencia a que la concentración de nitrógeno fuera mayor cuando se inoculó inicialmente con el *Bradyrhizobium* (B0) (FIGURA 44 Y TABLA 122). Hubo un aumento significativo en nitrógeno a los 40 días (TABLA 123).

### 6.3.3. Inoculación con *Glomus epigaeum* a los 15 días desde la siembra (G15).

En este caso la menor concentración de nitrógeno correspondió al tratamiento donde se inoculó con la bacteria inicialmente (TABLA 124). Esta misma tendencia se observó a los 40 y 60 días (FIGURA 45 Y TABLA 125). La concentración decreció en el último momento de evaluación (TABLA 126).

TABLA 113

EFEECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON BRADYRHIZOBIUM (B) Y GLOMUS  
EPIGAEUM (GO) SOBRE EL PESO SECO DE RAICES. DATOS ACUMULADOS  
DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	Peso Seco Raíz (1)
GO B15	0.36 a*
GO B0	0.36 a
GO N	0.45 b

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 Y 74.

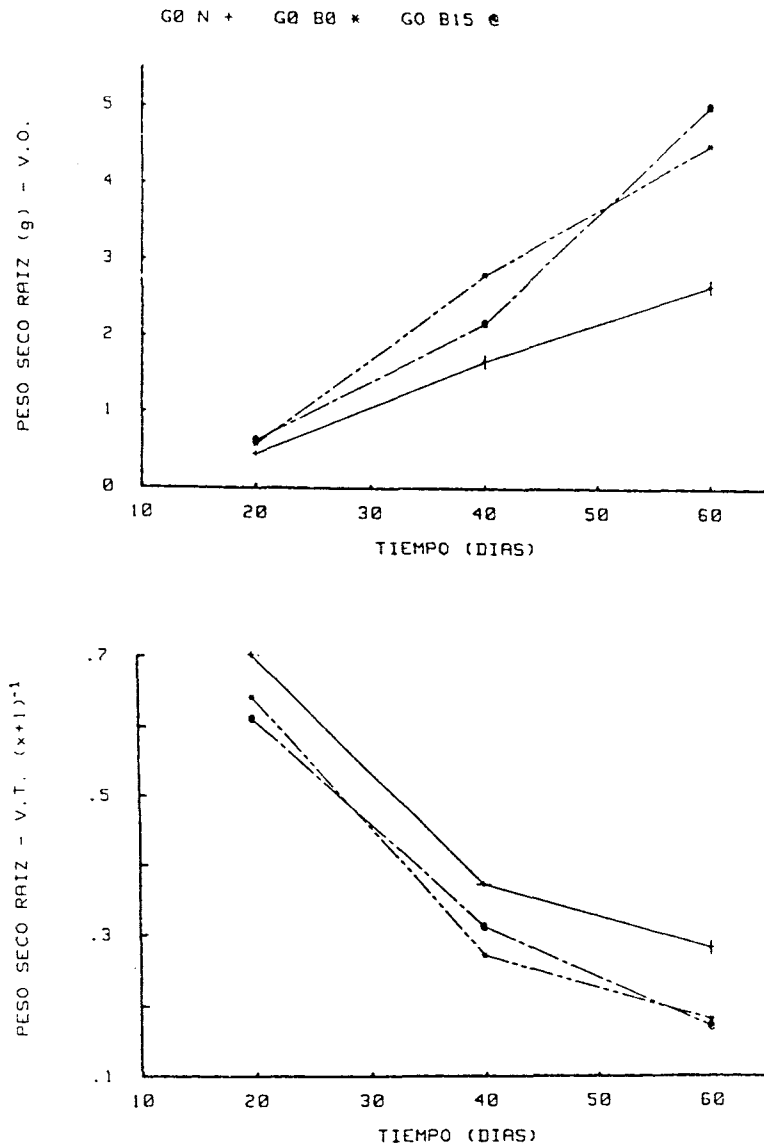


FIGURA 41. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) y con Glomus (G0) sobre el peso seco de raíces en plantas de soja.

TABLA 114

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 41  
V.T. (Variable Transformada)

Tratamiento	TIEMPO (días)		
	20	40	60
G0 B15	A*	A	A
G0 B0	A	A	A
G0 N	B	B	B

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLAS 68 y 74

TABLA 115

EVOLUCION DE TODOS LOS TRATAMIENTOS INOCULADOS CON GLOMUS  
EPIGAEUM (G0) SOBRE EL PESO SECO DE RAICES (1)

TIEMPO (días)		
20	40	60
0.65 a*	0.32 b	0.21 c

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 Y 74.



TABLA 116

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON BRADYRHIZOBIUM (B) Y GLOMUS EPIGAEUM (G15) SOBRE EL PESO SECO DE RAICES. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	Peso Seco Raíz (1)
G15 B15	0.41 a*
G15 B0	0.45 b

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 y 74.

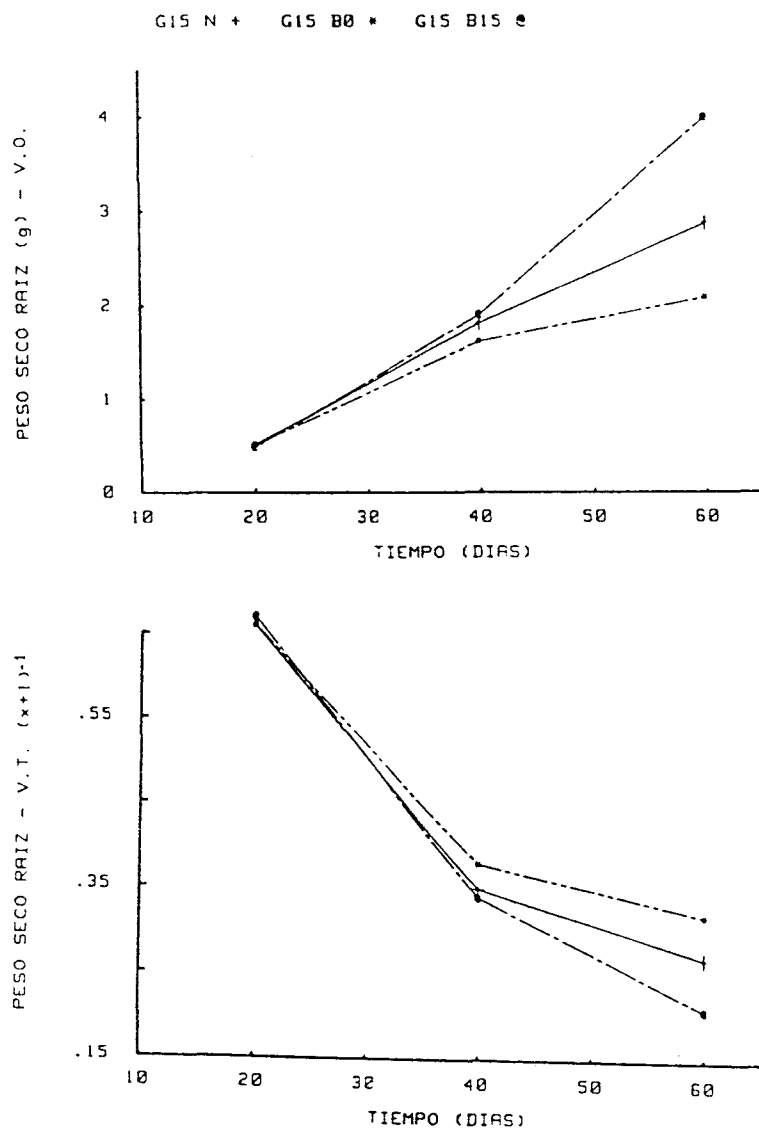


FIGURA 42. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con *Bradyrhizobium* (B15 y B0) y con *Glomus* (G15) sobre el peso seco de raíces en plantas de soja.

TABLA 117

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 42  
V.T. (Variable Transformada)

Tratamiento	TIEMPO (días)		
	20	40	60
G15 B15	A*	A	A
G15 B0	A	B	C
G15 N	A	AB	B

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLAS 68 y 74

TABLA 118

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS INOCULADOS CON GLOMUS EPIGAEUM (G15). VALORES DE PESO SECO DE RAICES (1)

TIEMPO (días)		
20	40	60
0.66 a*	0.36 b	0.27 c

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 Y 74.

TABLA 119

EFFECTO GENERAL DE LA INOCULACION CON GLOMUS EPIGAEUM (G0 Y G15)  
 Y LA FERTILIZACION FOSFATADA (P) SOBRE LA CONCENTRACION DE  
 NITROGENO EN TALLOS Y HOJAS. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS  
 PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	NITROGENO (1)
G15	0.88 a*
G0	0.96 b
P	0.90 a

Notas (1) igual que en TABLA 80 y (\*) igual que en TABLA 68.

TABLA 120

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON BRADYRHIZOBIUM (B) Y DE LA ADICION DE FOSFATO (P) SOBRE LA CONCENTRACION DE NITROGENO EN TALLOS Y HOJAS . DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	NITROGENO (1)
P B15	0.87 b*
P B0	0.93 a
P N	0.88 b

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 Y 80.

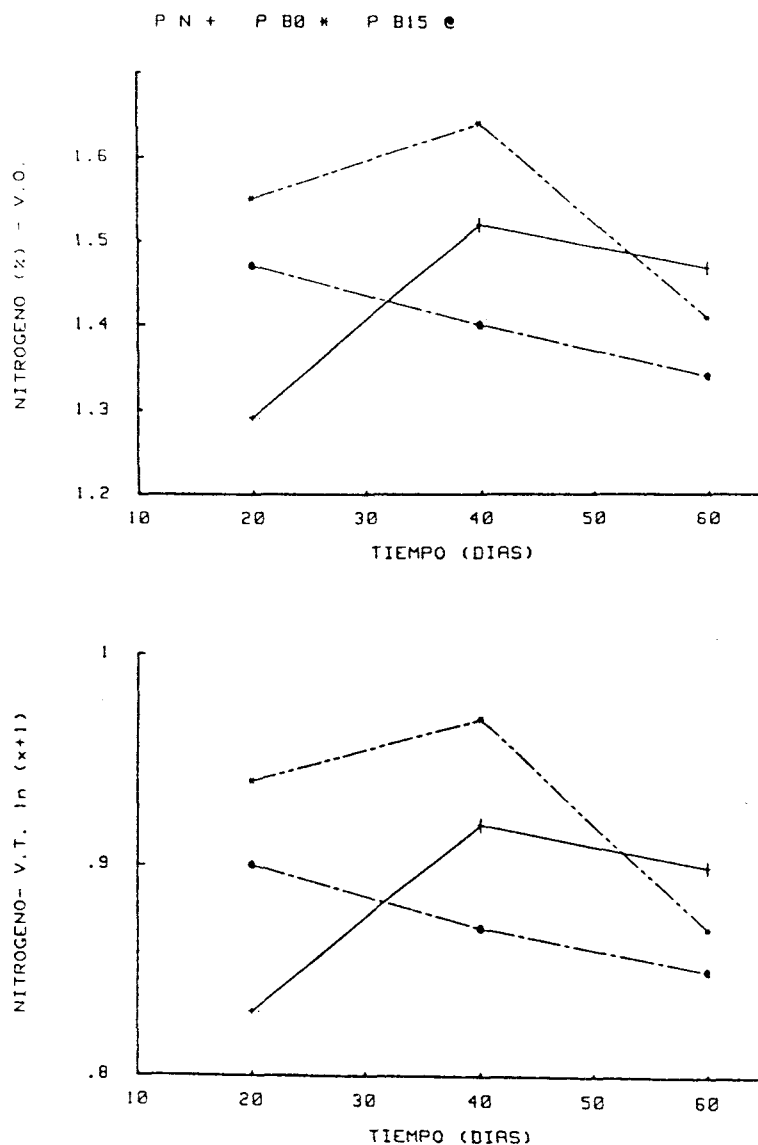


FIGURA 43. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) cuando se adiciona fosfato (P) sobre la concentración de nitrógeno en plantas de soja.

TABLA 121

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 43  
V.T. (Variable Transformada)

Tratamiento	TIEMPO (días)		
	20	40	60
P B15	A*	C	B
P B0	A	A	AB
P N	B	B	A

Atreviaturas y notas (\*) igual que en TABLAS 68 y 80

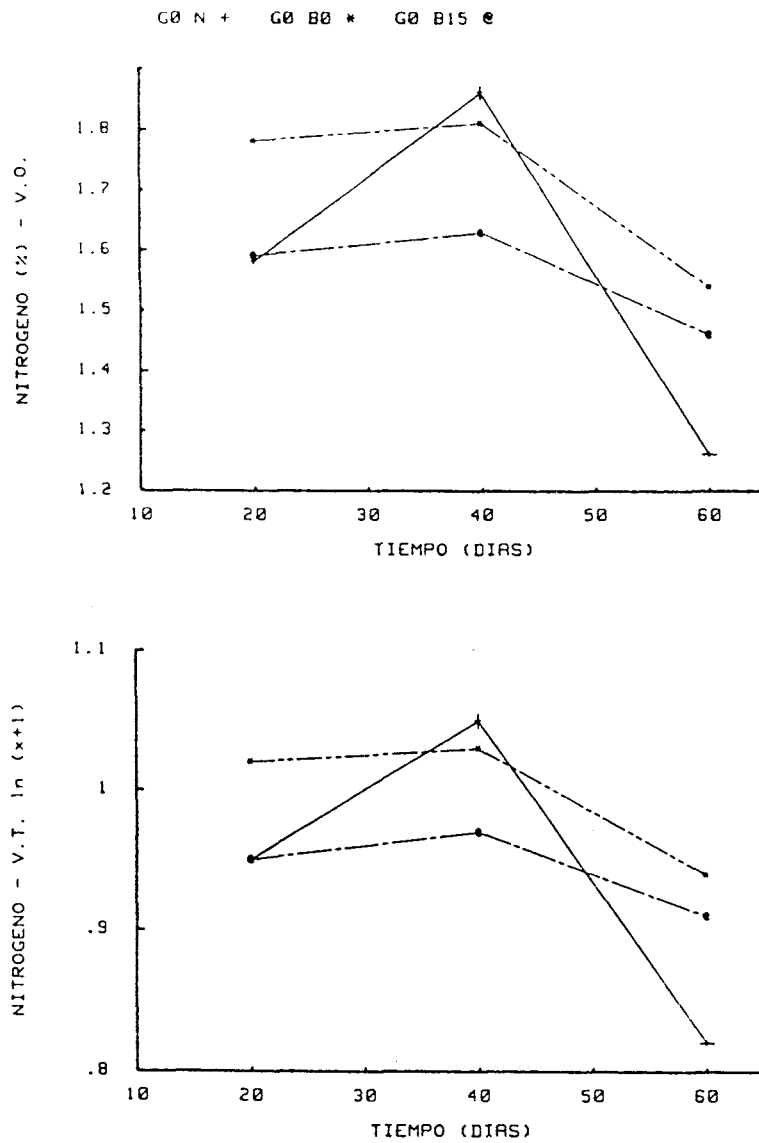


FIGURA 44. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) y con Glomus (G0) sobre la concentración de nitrógeno en plantas de soja.

TABLA 122

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 44  
V.T. (Variable Transformada)

Tratamiento	TIEMPO (días)		
	20	40	60
G0 B15	B*	B	A
G0 B0	A	A	A
G0 N	B	A	B

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLAS 68 y 80

TABLA 123

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS INOCULADOS CON GLOMUS EPIGAEUM (G0). VALORES DE CONCENTRACION DE NITROGENO

TIEMPO (días)		
20	40	60
0.97 a*	1.02 b	0.89 a

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 y 80.



TABLA 124

EFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON BRADYRHIZOBIUM (B) Y CON GLOMUS EPIGAEUM (G0) SOBRE LA CONCENTRACION DE NITROGENO EN TALLOS Y HOJAS. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	NITROGENO (1)
G15 B15	0.89 a*
G15 B0	0.84 b
G15 N	0.92 a

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 y 80.

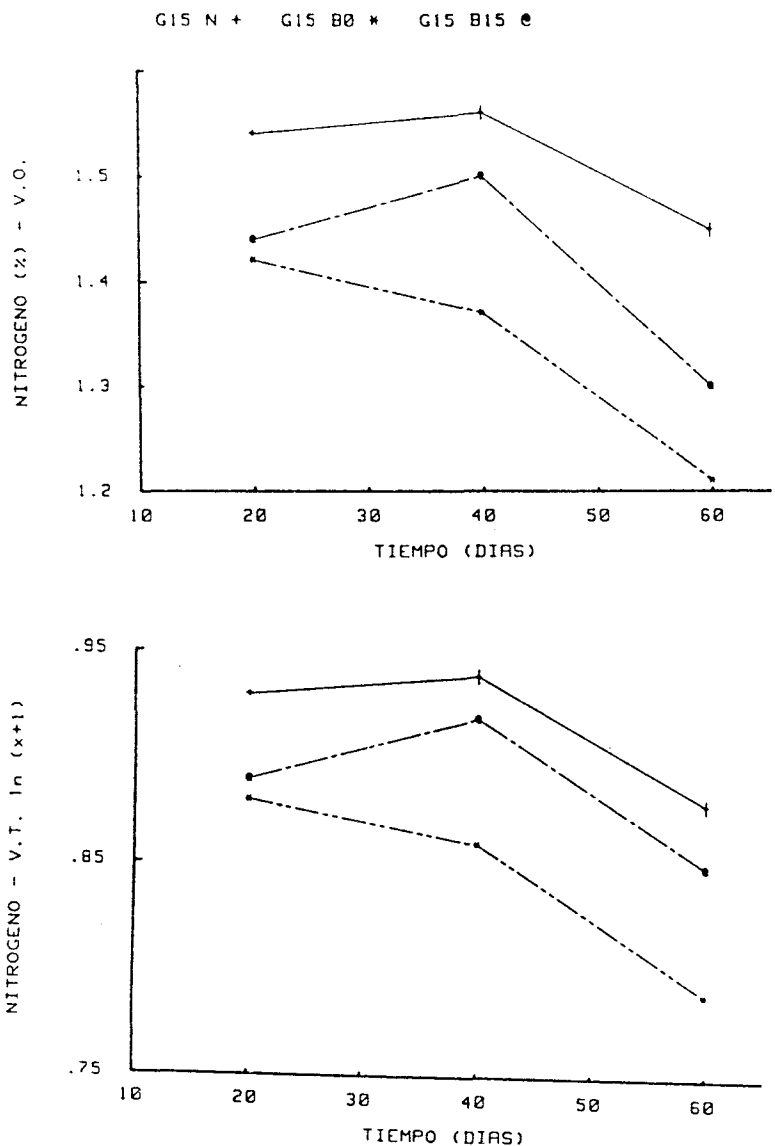


FIGURA 45. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) y con Glomus (G15) sobre la concentración de nitrógeno en plantas de soja.

TABLA 125

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 45  
V.T. (Variable Transformada)

Tratamiento	TIEMPO (días)		
	20	40	60
G15 B15	B*	A	A
G15 B0	B	B	B
G15 N	A	A	A

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLAS 68 y 80

TABLA 126

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS INOCULADOS CON GLOMUS EPIGAEUM (G15). VALORES DE CONCENTRACION DE NITROGENO EN TALLOS Y HOJAS (1)

TIEMPO (días)		
20	40	60
0.90 a*	0.91 a	0.84 b

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 80 y 68.

#### 6.4. Concentración de fósforo en tallos y hojas.

Las transformaciones usadas fueron útiles para homogeneizar los datos y cumplir con los supuestos necesarios para el análisis estadístico (FIGURAS 46, 47 Y 48).

En términos globales, la inoculación con HMAV en los dos tiempos usados (G0 y G15) aumentó la concentración de fósforo en tallos y hojas de la soja (TABLA 127). No ocurrió lo mismo con las bacterias (B0 y B15) las cuales no difirieron del tratamiento fertilizado con nitrógeno (N) (TABLA 128). En función de las interacciones detectadas se analizó cada nivel de fósforo por separado.

##### 6.4.1. Fertilización con fosfato (P).

Sólo hubo diferencias entre las medias en la primera evaluación y en ella la menor concentración de fósforo correspondió a la bacteria inoculada a los 15 días (P B15) (FIGURA 46 Y TABLA 129).

##### 6.4.2. Inoculación con *Glomus epigaeum* en el momento de la siembra (G0).

No existió ninguna diferencia significativa entre los tratamientos estudiados.

TABLA 127

EFEECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON G. EPIGAEUM (G0 Y G15) Y LA FERTILIZACION FOSFATADA (P) SOBRE LA CONCENTRACION DE FOSFORO EN TALLOS Y HOJAS . DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	FOSFORO (1)
G15	-2.80 a*
G0	-2.77 a
P	-2.68 b

Notas (1) y (\*) igual que en TABLA 68.

TABLA 128

EFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON B. JAPONICUM (B0 Y B15) Y FERTILIZACION NITROGENADA (N) SOBRE LA CONCENTRACION DE FOSFORO. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION.

TRATAMIENTO	FOSFORO (1)
B15	-2.80 a*
B0	-2.74 a
N	-2.74 a

Notas (1) y (\*) igual que en TABLA 68

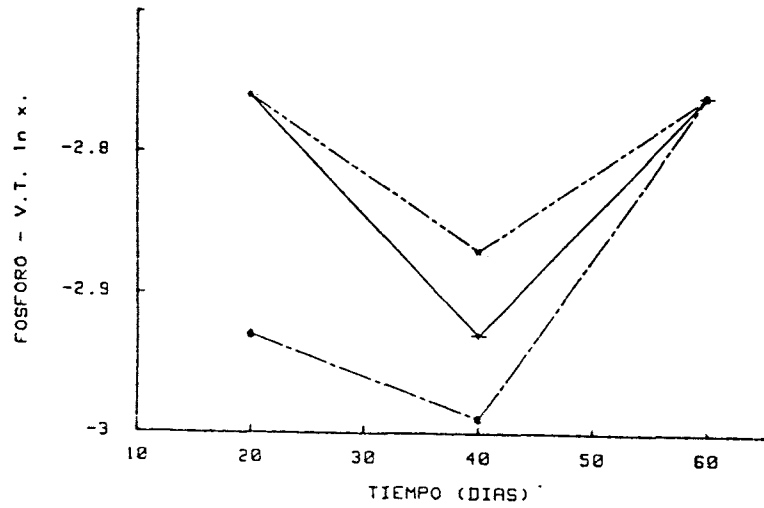
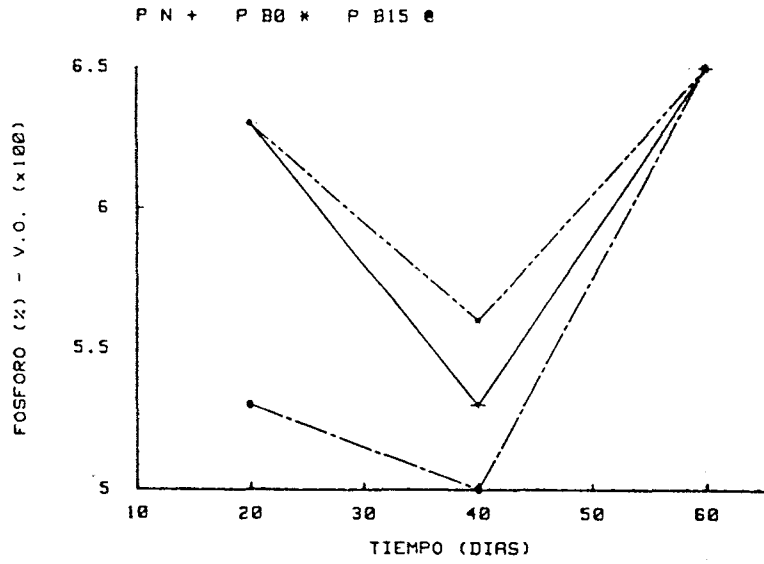


FIGURA 46. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con *Bradyrhizobium* (B15 y B0) cuando se adiciona fosfato (P) sobre la concentración de fósforo en plantas de soja.

TABLA 129

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 46  
V. T. (Variable Transformada)

Tratamiento	TIEMPO (días)		
	20	40	60
P B15	B*	A	A
P B0	A	A	A
P N	A	A	A

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLA 68

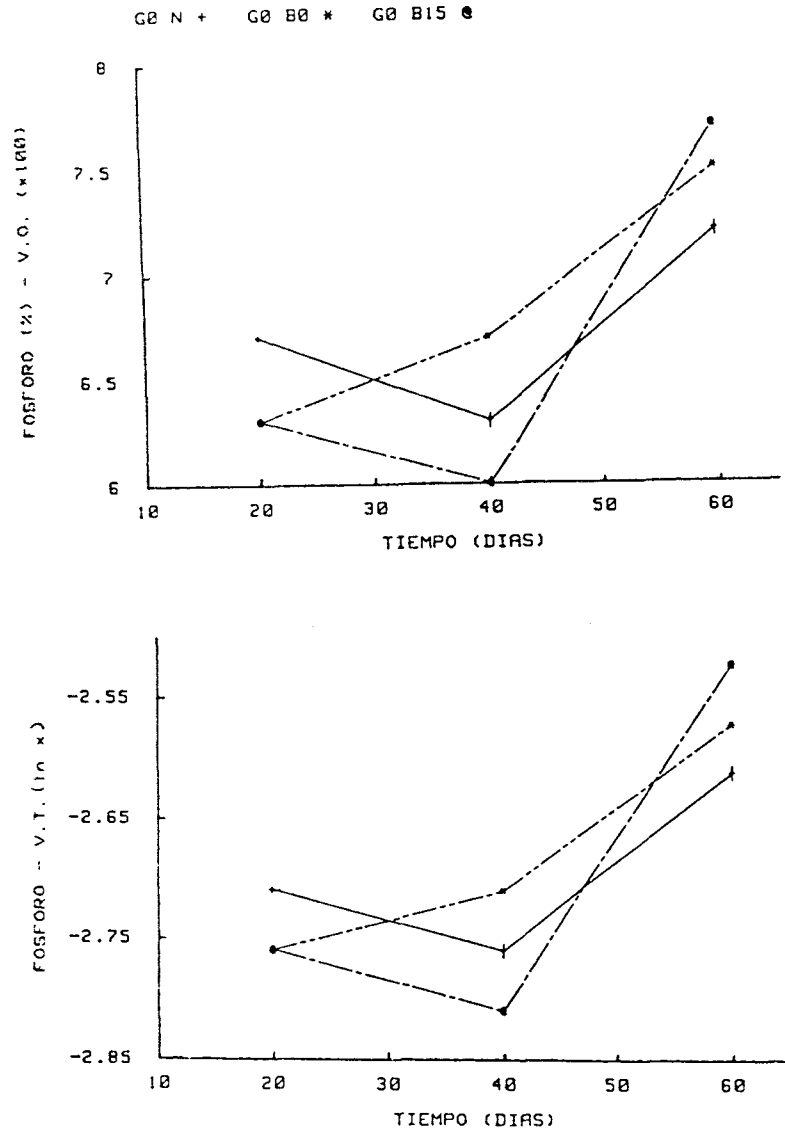


FIGURA 47. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) y con Glomus (G0) sobre la concentración de fósforo en plantas de soja.



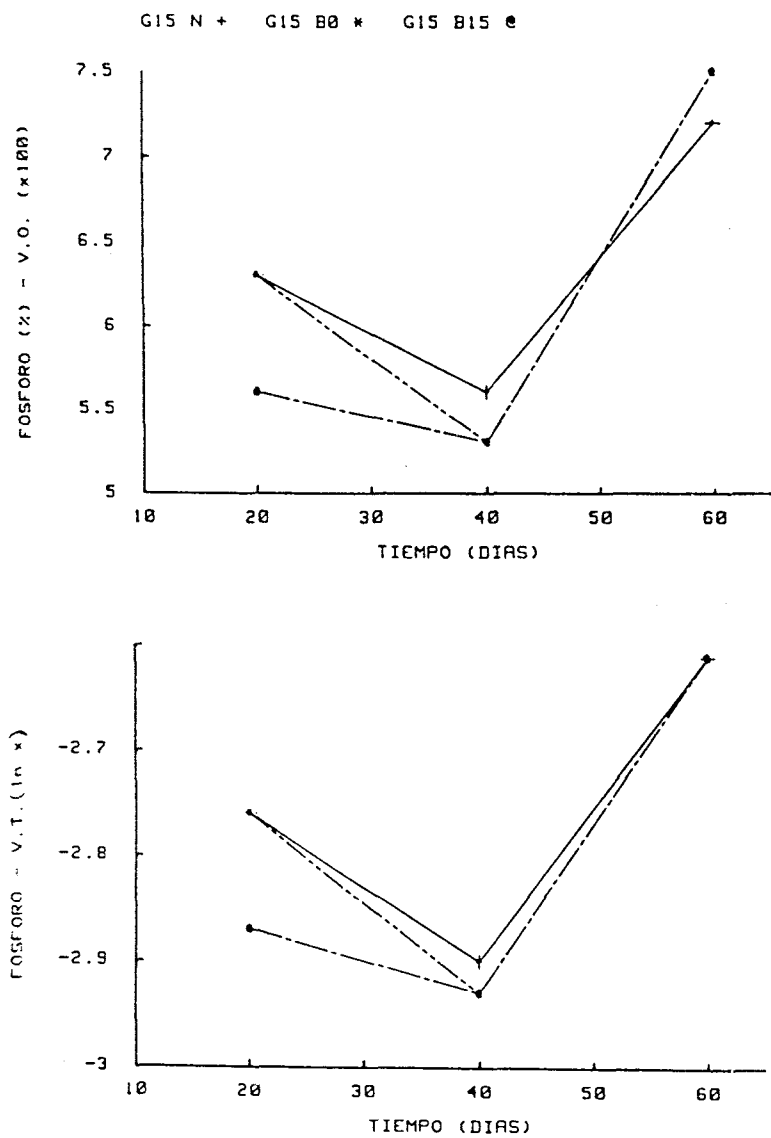


FIGURA 48. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) y con Glomus (G15) sobre la concentración de fósforo en plantas de soja.

#### 6.4.3. Inoculación con *Glomus epigaeum* a los 15 días desde la siembra (G15).

Con la incorporación del *Bradyrhizobium* a los 15 días (B15), o de fertilizante nitrogenado, se obtuvieron las mayores concentraciones de fósforo en la parte aérea de las plantas (TABLA 130). Existió una tendencia a que la concentración fuera mayor a los 60 días (TABLA 131).

#### 6.5. Concentración de potasio en tallos y hojas.

En un sentido general, puede afirmarse que la inoculación con *Glomus epigaeum* (G0 y G15) favoreció significativamente la concentración de potasio (TABLA 132). Sin embargo no hubo diferencia entre los niveles de nitrógeno (B15, B0 y N). La interacción detectada en el ANOVA determinó el análisis en cada nivel de fósforo.

##### 6.5.1. Fertilización con fosfato (P).

Como puede observarse en la FIGURA 49, no existieron diferencias entre los tratamientos estudiados. Pero, es importante señalar que la concentración de potasio aumentó significativamente en el último momento de evaluación (TABLA 133).

TABLA 130

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON BRADYRHIZOBIUM (B) Y CON GLOMUS EPIGAEUM (G15) SOBRE LA CONCENTRACION DE FOSFORO EN TALLOS Y HOJAS. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	FOSFORO (1)
G15 B15	-2.80 a*
G15 B0	-2.77 b
G15 N	-2.76 b

Notas (1) y (\*) igual que en TABLA 68.

TABLA 131

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS INOCULADOS CON GLOMUS EPIGAEUM (G15). VALORES DE CONCENTRACION DE FOSFORO EN TALLOS Y HOJAS (1)

TIEMPO (días)		
20	40	60
-2.80 ab*	-2.92 b	-2.61 a

Notas (1) y (\*) igual que en TABLA 68.

TABLA 132

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON G. EPIGAEUM (G0 Y G15) Y LA FERTILIZACION FOSFATADA (P) SOBRE LA CONCENTRACION DE POTASIO EN TALLOS Y HOJAS. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	POTASIO (1)
G15	0.63 a*
G0	0.65 a
P	0.62 b

Notas (1) y (\*) igual que en TABLA 68.

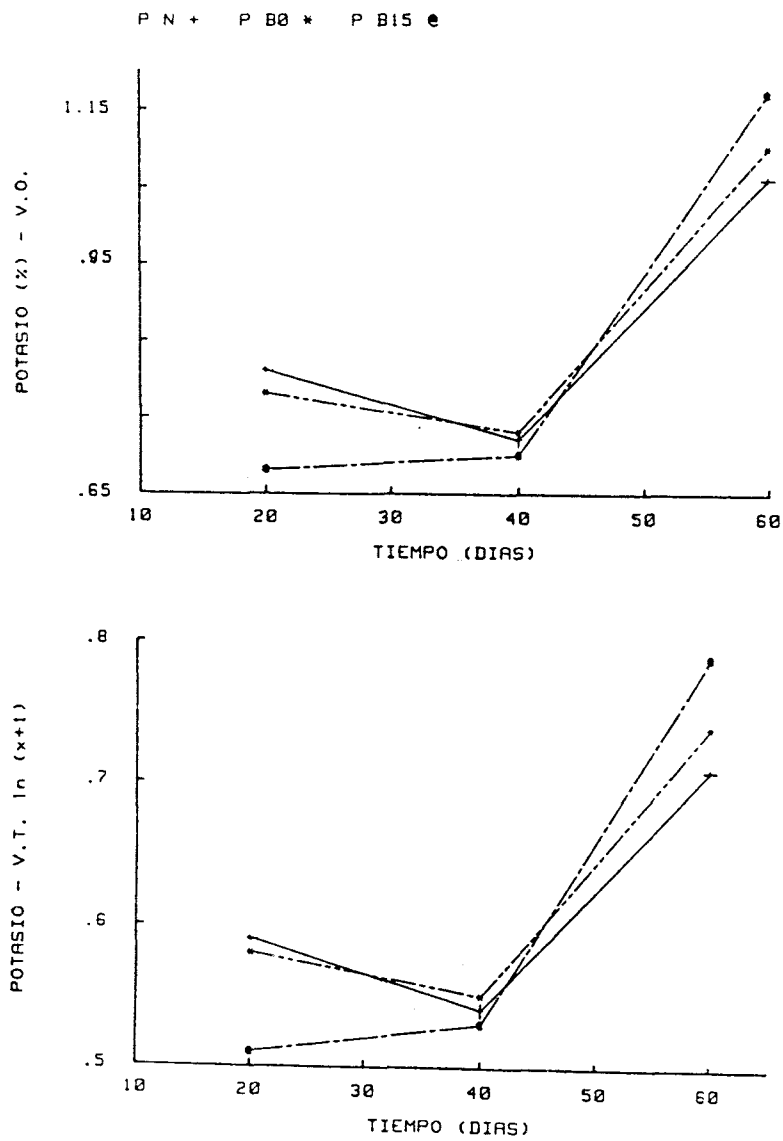


FIGURA 49. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) cuando se adiciona fosfato (P) sobre la concentración de potasio en plantas de soja.

TABLA 133

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS FERTILIZADOS CON FOSFATO (P). VALORES DE CONCENTRACION DE POTASIO EN TALLOS Y HOJAS (1)

TIEMPO (días)		
20	40	60
0.56 a*	0.54 a	0.75 b

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 y 80.

#### 6.5.2. Inoculación con *Glomus epigaeum* en el momento de la siembra (G0).

El comportamiento fué similar al del nivel anterior (P) (FIGURA 50). También hubo mayor concentración de potasio en la última evaluación (TABLA 134).

#### 6.5.3. Inoculación con *Glomus epigaeum* a los 15 días desde la siembra (G15).

Se reprodujeron las situaciones anteriores, según se observa en la FIGURA 51, con un aumento significativo en los 60 y 40 días en este orden de magnitud respectivamente (TABLA 135).

#### 6.6. Nodulación.

En general, se advirtió un aumento en el número de nódulos provocados por la inoculación con los HMAV (G0 y G15) (TABLA 136). También fué mayor la nodulación cuando se inoculó con *Bradyrhizobium* a los 15 días desde la siembra (TABLA 137).

La interacción detectada en el ANOVA determinó el análisis estadístico para cada nivel de fósforo.



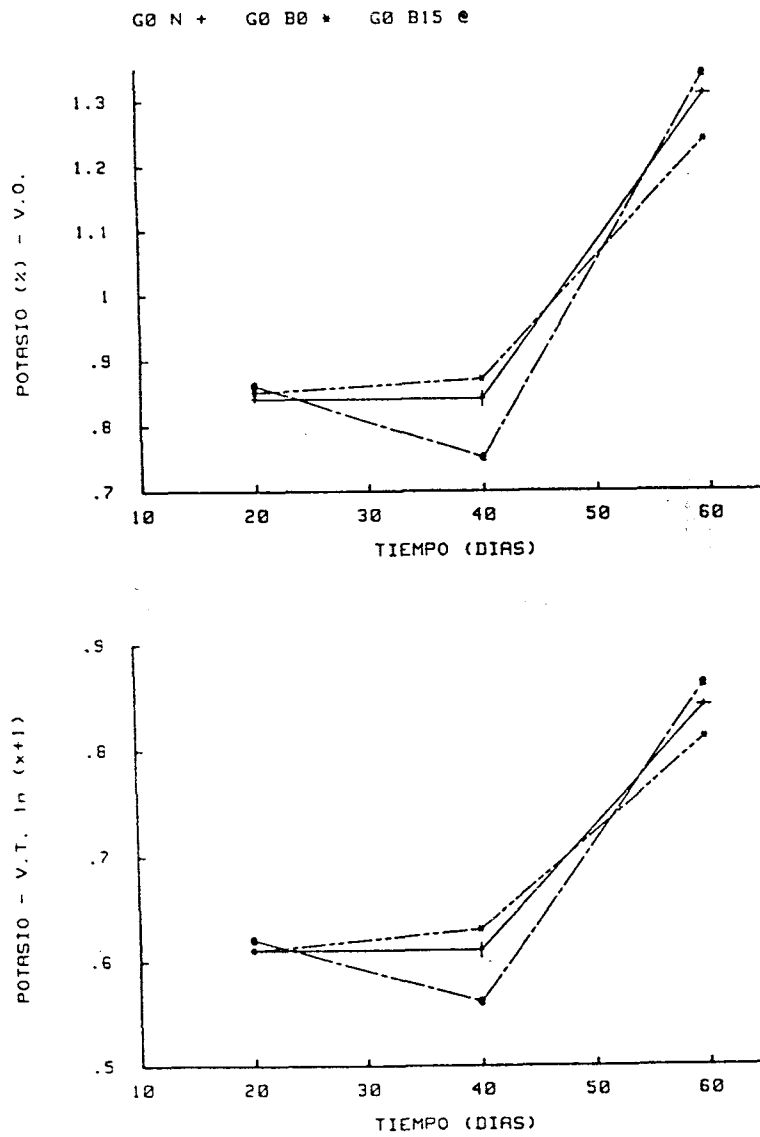


FIGURA 50. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con *Bradyrhizobium* (B15 y B0) y con *Glomus* (G0) sobre la concentración de potasio en plantas de soja.

TABLA 134

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS INOCULADOS CON GLOMUS EPIGAEUM (G0). VALORES DE CONCENTRACION DE POTASIO EN TALLOS Y HOJAS (1)

TIEMPO (días)		
20	40	60
0.61 a*	0.60 a	0.84 b

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 68 y 80.

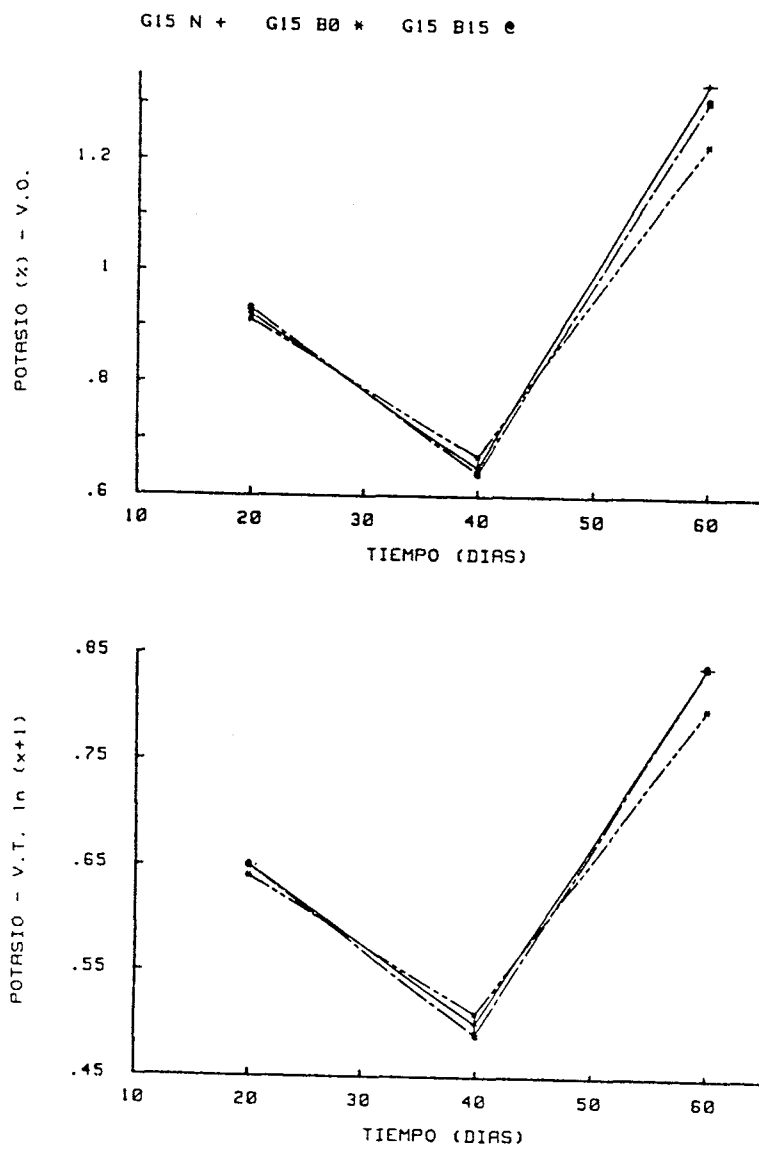


FIGURA 51. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con *Bradyrhizobium* (B15 y B0) y con *Glomus* (G15) sobre la concentración de potasio en plantas de soja.

TABLA 135

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS  
 INOCULADOS CON GLOMUS EPIGAEUM (G15). VALORES DE CONCENTRACION  
 DE POTASIO (1)

TIEMPO (días)		
20	40	60
0.65 b*	0.50 c	0.83 a

Notas (1) y (\*) igual que en TABLAS 80 y 68.

TABLA 136

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON GLOMUS EPIGAEUM (G15 Y G0) Y DE LA FERTILIZACION FOSFATADA (P) SOBRE LA NODULACION. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	NODULACION (1)
G15	7.71 a
G0	7.87 a
P	6.98 b

Nota (\*) igual que en TABLA 68 y (1) Variable Transformada ( $\sqrt{x}$ )

TABLA 137

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON BRADYRHIZOBIUM (B) Y DE LA FERTILIZACION FOSFATADA (P) SOBRE LA NODULACION. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION.

TRATAMIENTO	NODULACION (1)
P B15	7.53 a*
P B0	6.43 b

Notas (\*) y (1) igual que en TABLAS 68 y 136

#### 6.6.1. Fertilización con fosfato (P).

Pormenorizando en cada tiempo de evaluación se puso de manifiesto el mismo efecto general mencionado antes para el *Bradyrhizobium* inoculado a los 15 días (B15) específicamente en las dos últimas evaluaciones (FIGURA 52 y TABLA 138). Hubo un aumento lineal del número de nódulos (TABLA 139).

#### 6.6.2. Inoculación con *Glomus epigaeum* en el momento de la siembra (G0).

Si bien la tendencia fué que se formara mayor cantidad de nódulos cuando la bacteria se inoculó a los 15 días, no se detectaron diferencias significativas (FIGURA 53), a medida que transcurrió el tiempo, la nodulación aumentó (TABLA 140).

#### 6.6.3. Inoculación con *Glomus epigaeum* a los 15 días desde la siembra (G15).

En un estudio detallado sobre la formación de nódulos en cada tiempo de evaluación, se observó tendencia a que *Bradyrhizobium* inoculado a los 15 días aumentara el número de nódulos, especialmente en la segunda evaluación (FIGURA 54 Y TABLA 141). La nodulación se estacionó en los dos últimos períodos estudiados (TABLA 142).

P B0 \* P B15 e

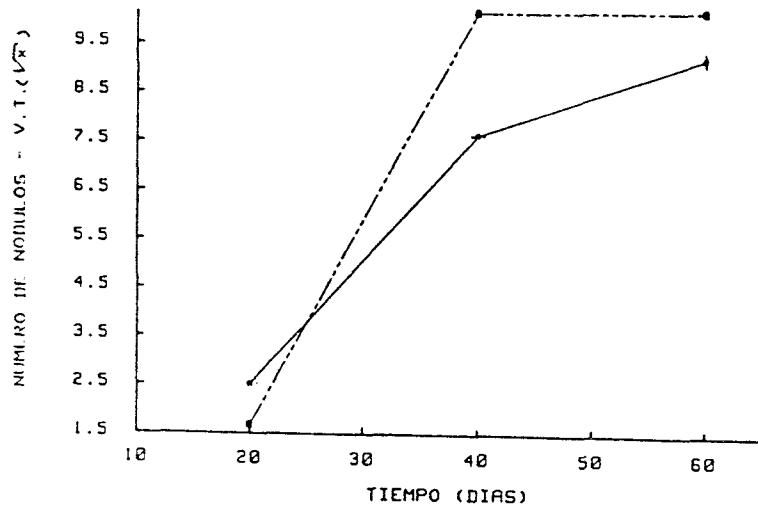
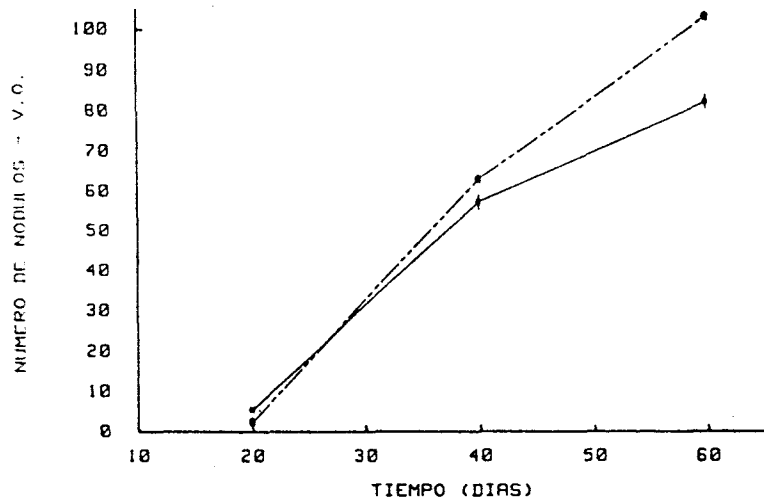


FIGURA 52. Efecto de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) cuando se adiciona fosfato (P) sobre la nodulación en plantas de soja.

TABLA 138

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 52  
V.T. (Variable Transformada)

Tratamiento	TIEMPO (días)		
	20	40	60
P B15	A*	A	A
P B0	A	B	B

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLAS 68 y 74



TABLA 139

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS  
FERTILIZADOS CON FOSFATO (P). VALORES DE NODULACION (1)

TIEMPO (días)		
20	40	60
2.08 c	8.86 b	9.99 a

Notas (\*) y (1) igual que en TABLAS 68 y 136

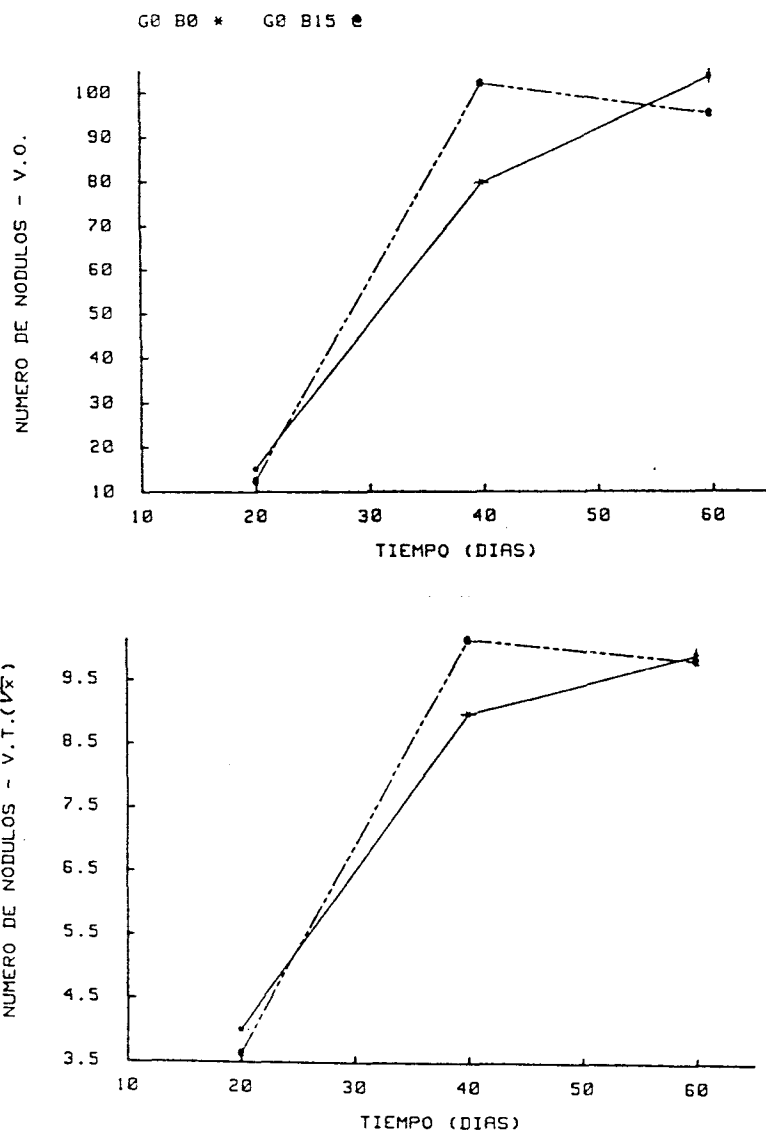


FIGURA 53. Efecto de la inoculación con *Bradyrhizobium* (B15 y B0) y con *Glomus* (G0) sobre la nodulación en plantas de soja.

TABLA 140

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS INOCULADOS CON GLOMUS EPIGAEUM (G0). VALORES DE NODULACION (1)

TIEMPO (días)		
20	40	60
3.82 a*	9.56 b	10.22 b

Notas (\*) y (1) igual que en TABLAS 68 y 136

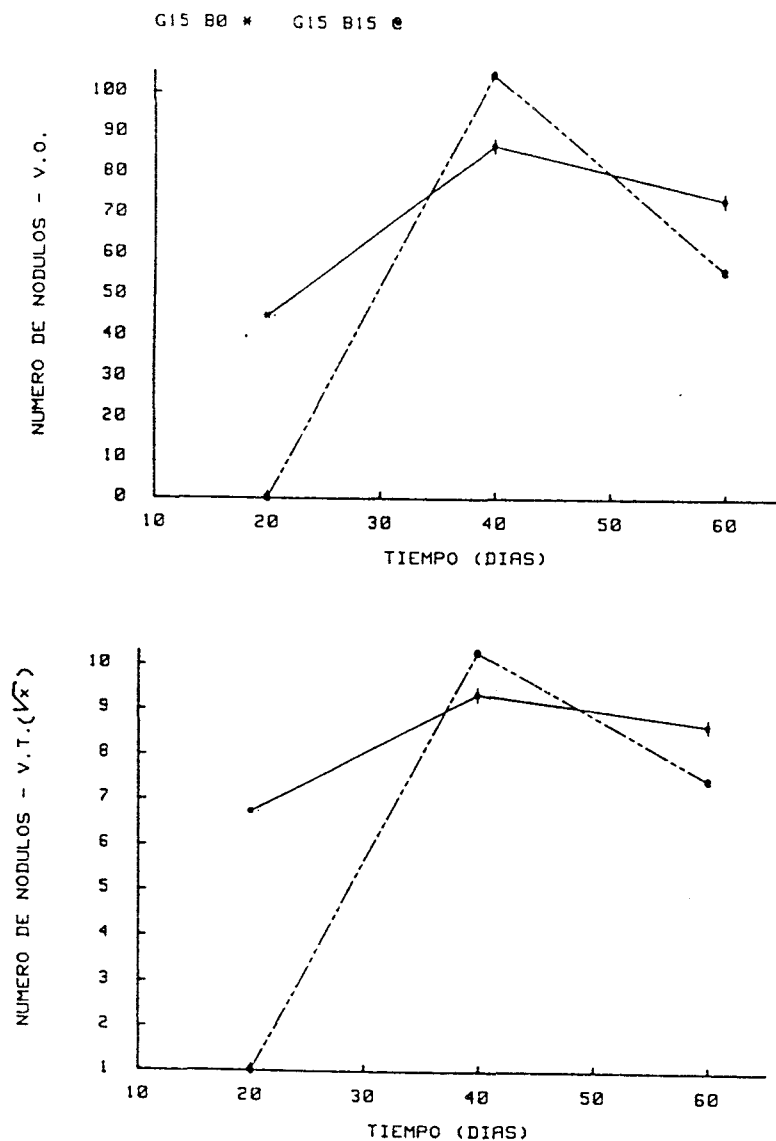


FIGURA 54. Efecto de la inoculación con *Bradyrhizobium* (B15 y B0) y con *Glomus* (G15) sobre la nodulación en plantas de soja.

TABLA 141

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 54  
V.T. (Variable Transformada)

Tratamiento	TIEMPO (días)		
	20	40	60
G15 B15	B*	A	A
G15 B0	A	A	B

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLAS 68 y 74

TABLA 142

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS INOCULADOS CON GLOMUS EPIGAEUM (G15). VALORES DE NODULACION (1)

TIEMPO (días)		
20	40	60
3.86 a*	9.84 c	9.46 c

Notas (\*) y (1) igual que en TABLAS 68 y 80

### 6.7. Fructificación.

La formación de vainas, las cuales fueron cosechadas a los 60 días, se manifestó, en forma global, estimulada por los HMAV (TABLA 143). Analizando de igual forma, las bacterias inoculadas a los 15 días fueron más eficientes que al inicio y a su vez que la fuente nitrogenada (TABLA 144).

Nuevamente, por las interacciones detectadas, se analizó cada nivel de fósforo.

#### 6.7.1. Fertilización con fosfato (P).

El comportamiento del fosfato fué similar al efecto global señalado antes para las bacterias (B15 > B0 > N) (FIGURA 55 Y TABLA 145).

#### 6.7.2. Inoculación con *Glomus epigaeum* en el momento de la siembra (G0).

En este caso se vió que la bacteria siempre estimuló significativamente la producción de frutos (TABLA 146).

6.7.3. Inoculación con Glomus epigaeum a los 15 días desde la siembra (G15).

También aquí las bacterias ejercieron un efecto estimulante sobre la fructificación (TABLA 147).

6.8. Micorrización.

En general, el nivel de la micorrización fué cuantitativamente mayor cuando el hongo se estableció desde el inicio (TABLA 148) también la bacteria inoculada inicialmente promovió a una mayor colonización (TABLA 149).

Las interacciones que se presentaron fundamentaron el análisis en los dos niveles de fósforo (G0 y G15) y se informa que los tratamientos con fosfato carecían de micorrizas.

6.8.1. Inoculación con Glomus epigaeum en el momento de la siembra (G0).

La bacteria inoculada inicialmente (B0) favoreció la formación de micorrizas y, a los 15 días (B15) más aún que la fertilización nitrogenada (TABLA 150). Este mismo efecto se observó en detalle en cada momento de evaluación (TABLA 151 Y FIGURA 56). Hubo un aumento gradual de la micorrización a través del tiempo (TABLA 152).

TABLA 143

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON GLOMUS EPIGAEUM (G0 Y G15)  
 LA FERTILIZACION FOSFATADA (P) SOBRE EL NUMERO DE VAINAS  
 DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	VAINAS (1)
G15	2.56 a*
G0	2.52 a
P	2.19 b

Notas (\*) y (1) igual que en TABLAS 68 y 80



TABLA 144

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON BRADYRHIZOBIUM (B0 Y B15) Y LA FERTILIZACION NITROGENADA (N) SOBRE LA PRODUCCION DE VAINAS  
 DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	VAINAS (1)
B15	2.69 a*
B0	2.48 b
N	2.11 c

Notas (\*) y (1) igual que en TABLAS 68 y 80

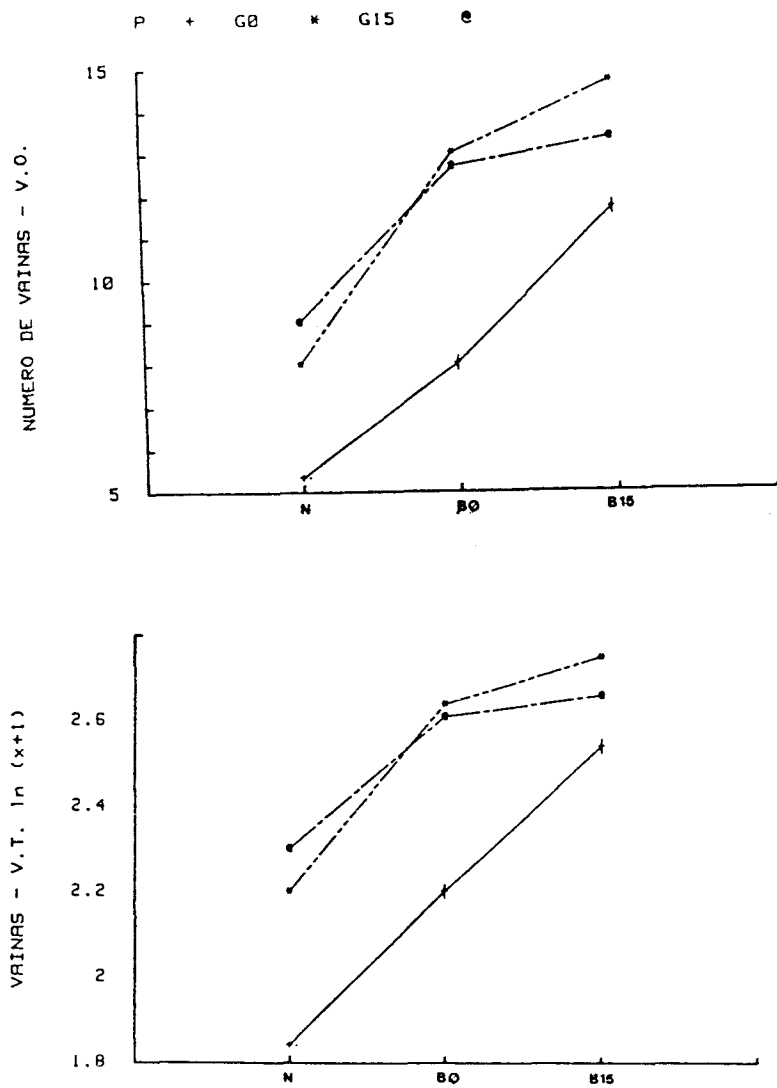


FIGURA 55. Efecto de la adición de nitrógeno (N) y de fosfato (P) o de la inoculación con *Bradyrhizobium* (B15 y B0) y con *Glomus* (G15 y G0) sobre la producción de vainas en plantas de soja. Evaluación a los 67 días desde la siembra.

TABLA 145

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 55  
FERTILIZACION CON FOSFATO (P)

Tratamiento	VAINAS
P B15	A*
P B0	B
P N	C

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLAS 68 y 74

TABLA 146

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 55  
INOCULACION CON *Glomus epigaeum* (G0)

Tratamiento	VAINAS
G0 B15	A
G0 B0	A
G0 N	B

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLAS 68 y 74

TABLA 147

ANALISIS ESTADISTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 56  
INOCULACION CON *Glomus epigaeum* (G15)

Tratamiento	VAINAS
G15 B15	A
G15 B0	A
G15 N	B

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLAS 68 y 74

TABLA 148

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON GLOMUS EPIGAEUM (G15 Y G0)  
SOBRE LA MICORRIZACION. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS  
DE EVALUACION

TRATAMIENTO	MICORRIZACION (1)
G15	22.55 b*
G0	32.09 a

Notas (\*) y (1) igual que en TABLAS 68 y 2

TABLA 149

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON BRADYRHIZOBIUM (B15 Y B0)  
 SOBRE LA MICORRIZACION. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS  
 DE EVALUACION

TRATAMIENTO	MICORRIZACION (1)
B15	28.63 b*
B0	31.99 a
N	21.34 c

Notas (\*) y (1) igual que en TABLAS 68 y 2

TABLA 150

EFEECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON BRADYRHIZOBIUM (B) Y GLOMUS  
EPIGAEUM (G0) SOBRE LA MICORRIZACION. DATOS ACUMULADOS DE TODOS  
LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	MICORRIZACION (1)
G0 B15	34.49 b*
G0 B0	37.11 a
G0 N	24.68 c

Notas (\*) y (1) igual que en TABLAS 68 y 2

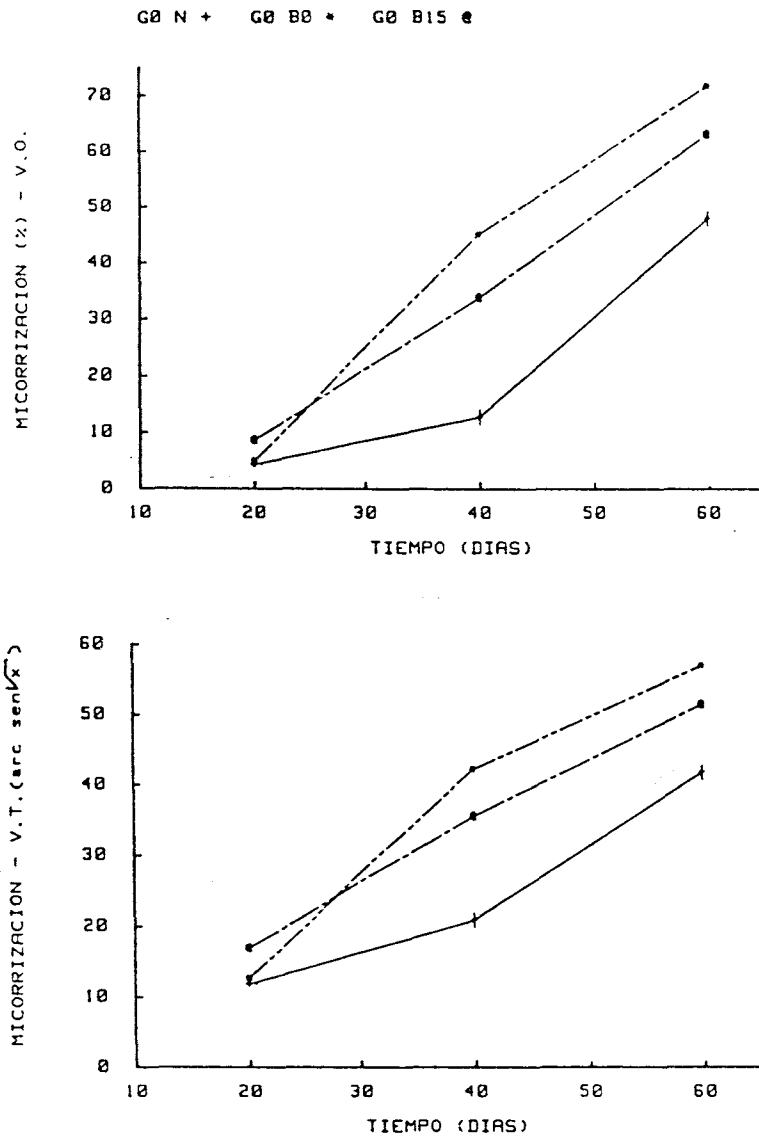


FIGURA 56. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con *Bradyrhizobium* (B15 y B0) y con *Glomus* (G0) sobre la micorrización en plantas de soja.

TABLA 151

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 56  
V.T. (Variable Transformada)

Tratamiento	TIEMPO (días)		
	20	40	60
G0 B15	A*	B	B
G0 B0	B	A	A
G0 N	B	C	C

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLAS 68 y 74

TABLA 152

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS INOCULADOS CON GLOMUS EPIGAEUM (G0). VALORES DE MICORRIZACION (1)

TIEMPO (días)		
20	40	60
13.73 c*	32.75 b	49.79 a

Notas (\*) y (1) igual que en TABLAS 68 y 2



6.8.2. Inoculación con *Glomus epigaeum* a los 15 días desde la siembra (G15).

Para este caso, ambos momentos de inoculación con la bacteria (B0 y B15) favorecieron la micorrización (TABLA 153). Aunque tempranamente la bacteria inoculada a los 15 días estimuló la micorrización, en las otras dos evaluaciones fué la bacteria puesta desde el inicio (B0) la que más colonización produjo (FIGURA 57 Y TABLA 154). Hubo un aumento de la micorrización a medida que transcurrió el tiempo (TABLA 155).

B. ENSAYOS CON ALFALFA.

7. ESTUDIO "IN VITRO" DE LAS INTERACCIONES ENTRE RHIZOBIUM MELILOTI Y ESPORAS DE HONGOS MICORRICICOS.

En la FIGURA 58 se observa que las esporas de *Glomus caledonium* alcanzaron el mismo porcentaje de germinación que las de *G. mosseae* y que ambos fueron superadas por *Glomus fasciculatum*. *G. mosseae* presentó un comportamiento extraño debido a que los niveles de germinación fueron altos al principio y luego se estacionaron.

Cuando se analizó el comportamiento de *Glomus caledonium*, en los distintos tratamientos, que se detallan en la TABLA 156, se observó en la primera y segunda lecturas que el efecto estimulador del *Rhizobium* fué mayor que en el medio 79 y prácticamente nulo en agar-agua + medio 79. En la segunda lectura no se apreció efecto sobre

TABLA 153

EFFECTO GLOBAL DE LA INOCULACION CON BRADYRHIZOBIUM (B) Y GLOMUS EPIGAEUM (G15) SOBRE LA MICORRIZACION. DATOS ACUMULADOS DE TODOS LOS PERIODOS DE EVALUACION

TRATAMIENTO	MICORRIZACION (1)
G15 B15	22.77 a*
G15 B0	26.88 a
G15 N	18.00 b

Notas (\*) y (1) igual que en TABLAS 68 y 2

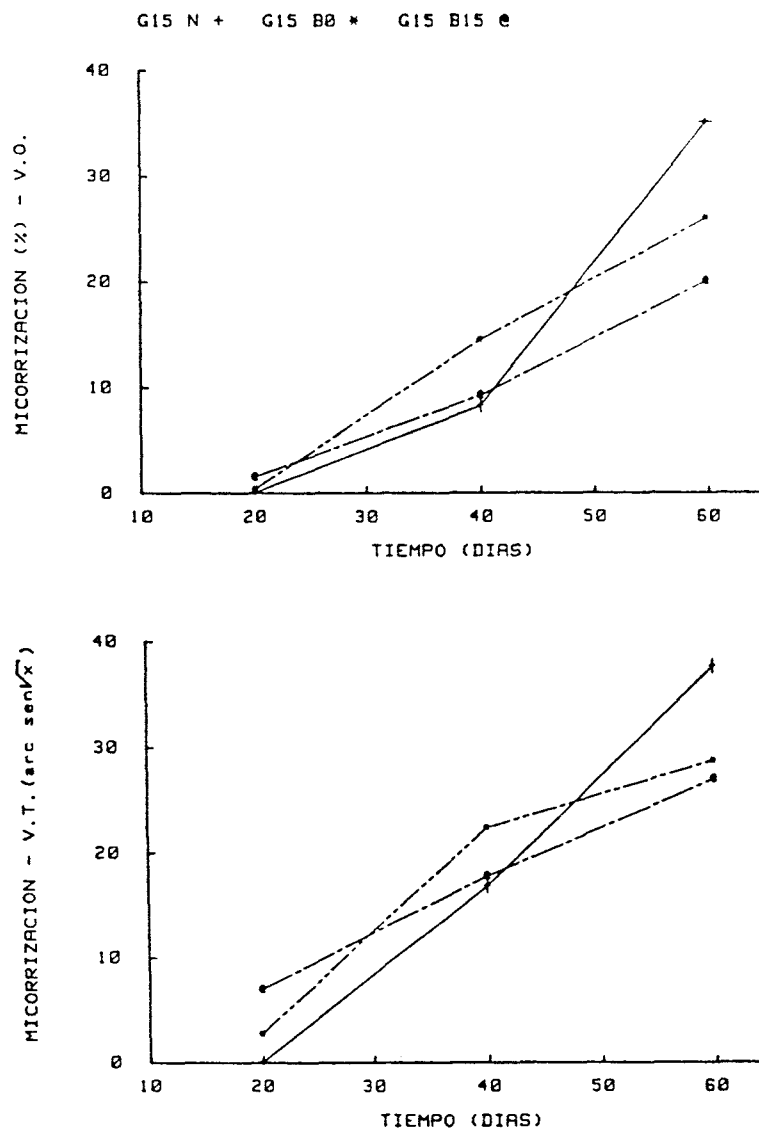


FIGURA 57. Efecto de la adición de nitrógeno (N) o de la inoculación con Bradyrhizobium (B15 y B0) y con Glomus (G15) sobre la micorrización en plantas de soja.

TABLA 154

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS GRAFICADOS EN LA FIGURA 57  
V.T. (Variable Transformada)

Tratamiento	TIEMPO (días)		
	20	40	60
G15 B15	A*	B	B
G15 B0	B	A	A
G15 N	C	B	C

Abreviaturas y notas (\*) igual que en TABLAS 68 y 74

TABLA 155

EVOLUCION A LO LARGO DEL TIEMPO DE TODOS LOS TRATAMIENTOS  
 INOCULADOS CON GLOMUS EPIGAEUM (G15). VALORES DE MICORRIZACION

TIEMPO (días)		
20	40	60
3.22 c*	18.94 b	45.48 a

Notas (\*) y (1) igual que en TABLAS 68 y 2

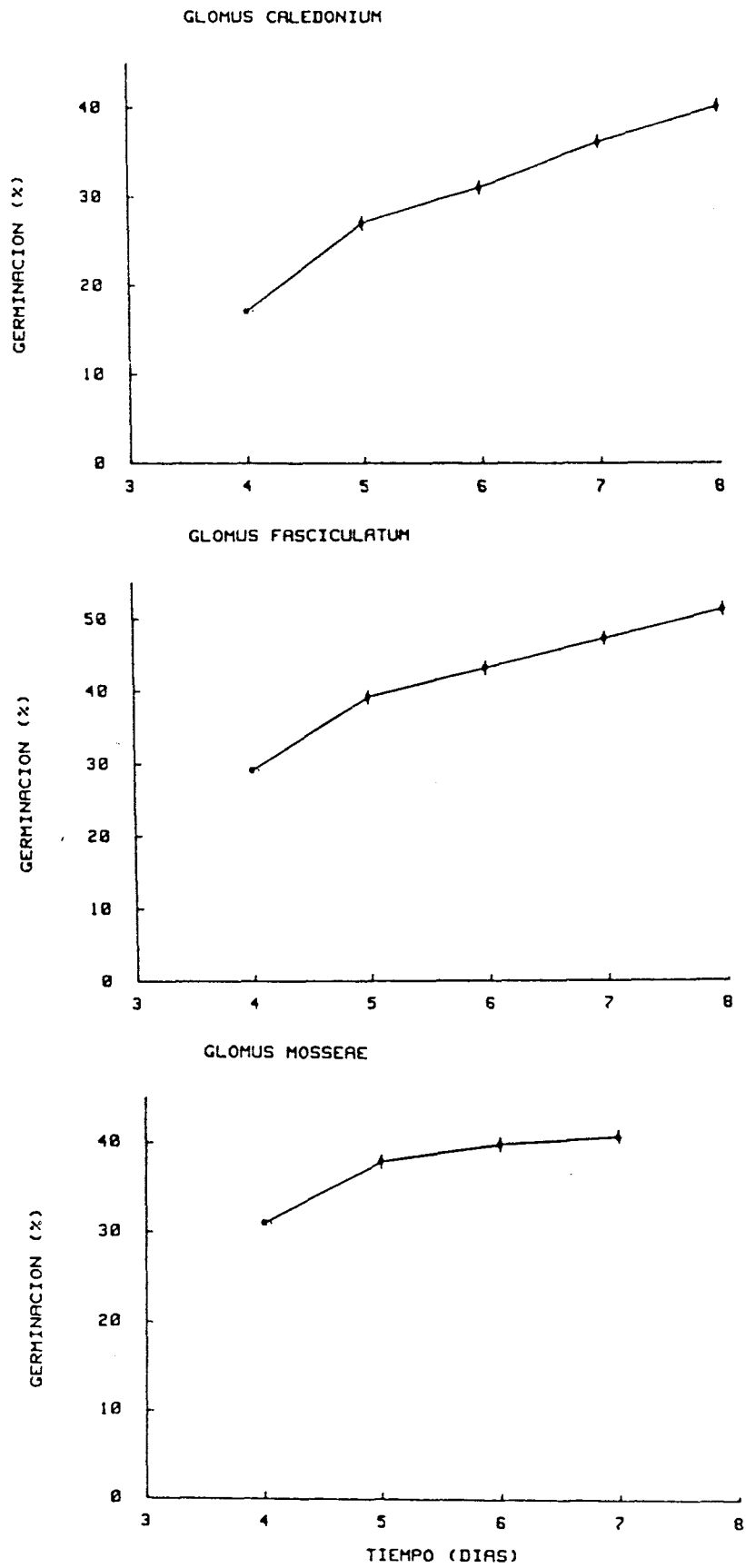


FIGURA 58. Germinación de esporas de *Glomus caledonium*, *Glomus fasciculatum* y *Glomus mosseae* a través del tiempo.

TABLA 156

EFFECTO DE LA PRESENCIA DE RHIZOBIUM Y DE DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO SOBRE EL CRECIMIENTO VEGETATIVO Y LA FORMACION DE VESICULAS DE GLOMUS CALEDONIUM

	1a. LECTURA		2a. LECTURA		
	CONTROL	+ RHIZOBIUM	CONTROL	+ RHIZOBIUM	
AGAR AGUA	Ø mm	5.95 + 1.35	9.21 + 2.17	15.63 + 2.71	21.43 + 2.97
	V *	1.42 + 1.42	4.08 + 1.93	7.17 + 1.96	12.54 + 2.74
MEDIO 79	Ø mm	5.78 + 1.22	7.96 + 2.99	11.96 + 2.13	17.15 + 3.64
	V *	1.08 + 0.83	4.75 + 2.46	5.00 + 1.72	13.13 + 3.47
AGAR AGUA Y MEDIO 79	Ø mm	2.64 + 1.12	6.17 + 2.57	11.59 + 3.17	15.19 + 3.06
	V *	0.33 + 0.59	3.50 + 2.20	6.22 + 1.99	11.10 + 5.19

Ø mm= diámetro del micelio en mm; V\* = Vesículas (número)

el desarrollo de las hifas en ningún medio, en tanto que hubo un estímulo sobre el número de vesículas en agar-agua, menor en agar-agua + medio 79 y nulo si el medio 79 era el único componente (TABLA 157).

En cuanto a *Glomus mosseae*, en la TABLA 158, se observa que, en la primera lectura, hubo menor estimulación cuando el medio de cultivo fué agar-agua, menor con medio 79 y ninguna con los dos medios combinados. En la segunda lectura, hubo mayor estimulación del desarrollo de las hifas en agar-agua y medio 79, pero no en el medio mezclado de ambos, lo mismo ocurrió respecto a la formación de vesículas. El medio 79 inhibió el desarrollo del hongo (TABLA 158).

Cuando se consideró globalmente el desarrollo de los hongos en todos los medios utilizados, se pudo comprobar que *Glomus caledonium* fué el más estimulado por *Rhizobium meliloti* ya que incrementó la longitud de hifas en un 62% y 37% respecto al control en la primera y segunda lectura respectivamente. Cuando se compararon los incrementos en el número de vesículas, estos fueron del orden del 337 y 100% en la primera y segunda lectura respectivamente (FIGURA 59).

#### 8. PREPARACION DE INOCULANTES DE MICORRIZAS PARA CULTIVOS DE ALFALFA.

Las semillas de alfalfa contenidas en los "pellets" mantuvieron su capacidad germinativa luego del

TABLA 157

EFFECTO DE LA PRESENCIA DE RHIZOBIUM Y DE DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO SOBRE EL CRECIMIENTO VEGETATIVO Y LA FORMACION DE VESICULAS DE GLOMUS FASCICULATUM

		1a. LECTURA		2a. LECTURA	
		CONTROL	+ RHIZOBIUM	CONTROL	+ RHIZOBIUM
AGAR AGUA	Ø mm	3.89 + 0.97	7.92 + 1.97	14.08 + 2.15	15.99 + 2.36
	V *	0.44 + 0.28	2.85 + 1.27	3.38 + 0.73	12.08 + 3.49
MEDIO 79	Ø mm	5.02 + 1.95	6.51 + 2.38	11.34 + 3.15	12.55 + 3.80
	V *	0.80 + 0.81	1.50 + 1.32	4.10 + 1.86	4.80 + 2.10
AGAR AGUA Y MEDIO 79	Ø mm	4.48 + 2.68	6.41 + 2.30	14.63 + 3.81	15.77 + 2.65
	V *	0.50 + 0.54	0.69 + 0.60	3.30 + 1.36	6.77 + 2.14

Ø mm= diámetro del micelio en mm ; V \*= Vesículas (número)



TABLA 158

EFFECTO DE LA PRESENCIA DE RHIZOBIUM Y DE DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO SOBRE EL CRECIMIENTO VEGETATIVO Y LA FORMACION DE VESICULAS DE GLOMUS MOSSEAE

		1a. LECTURA		2a. LECTURA	
		CONTROL	+ RHIZOBIUM	CONTROL	+ RHIZOBIUM
AGAR AGUA	Ø mm	5.98 + 0.74	10.37 + 1.76	15.51 + 2.49	21.38 + 1.25
	V *	1.31 + 0.48	3.82 + 1.10	8.00 + 2.11	14.09 + 1.74
MEDIO 78	Ø mm	8.99 + 0.98	11.34 + 4.34	12.91 + 1.71	16.66 + 5.97
	V *	0.44 + 0.44	6.60 + 2.13	3.78 + 1.55	9.00 + 2.52
AGAR AGUA Y MEDIO 79	Ø mm	14.72 + 1.01	14.00 + 1.34	21.57 + 0.99	20.82 + 3.05
	V *	11.18 + 2.16	4.62 + 1.30	16.54 + 2.99	21.38 + 8.39

Ø mm= diámetro del micelio en mm ; V \*= Vesículas (número)

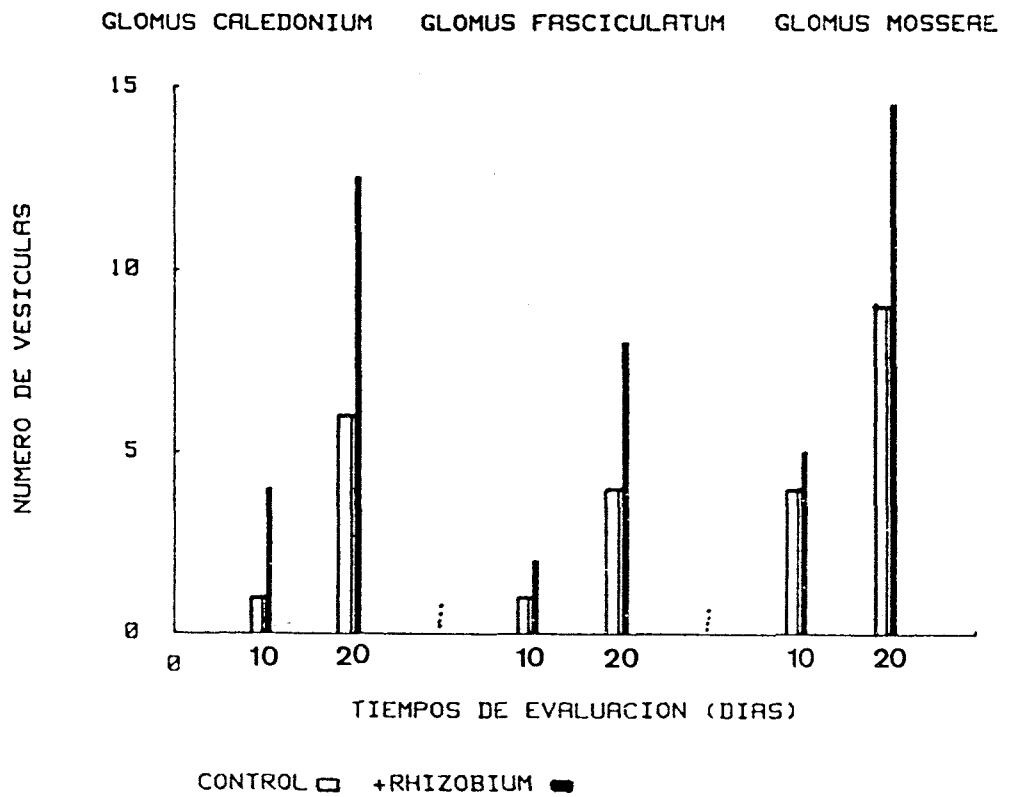
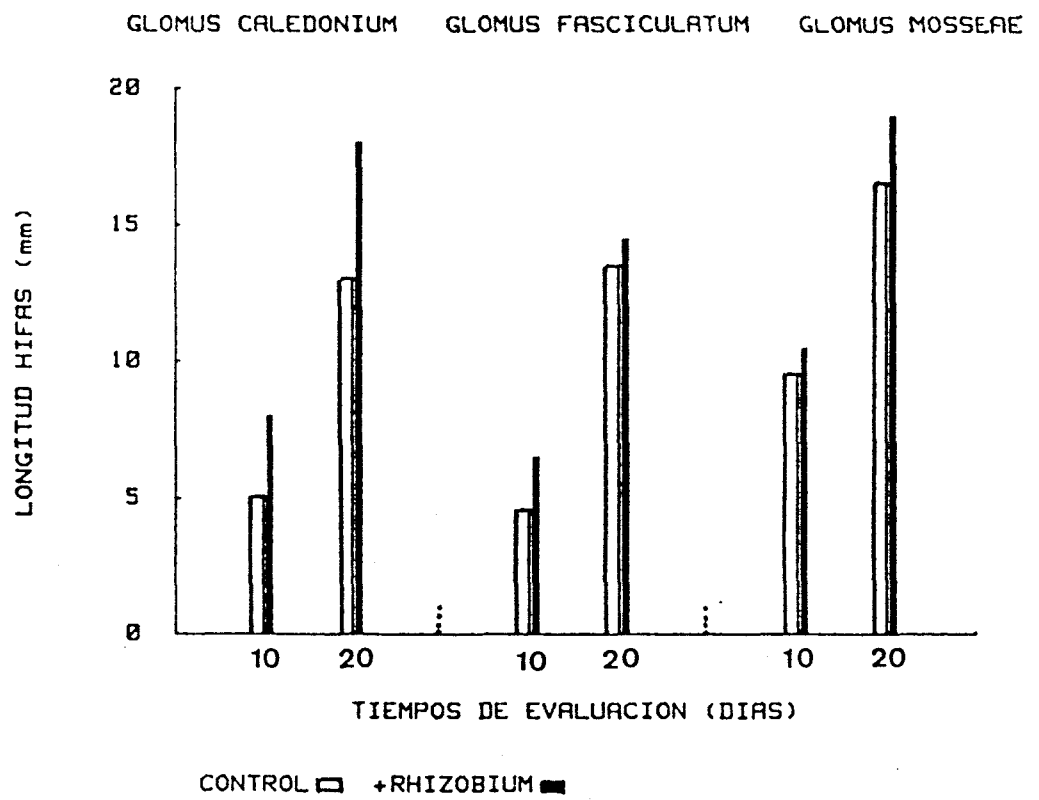


FIGURA 59. Efecto global de la interacción entre diferentes HMAV y *Rhizobium meliloti*, en todos los medios de cultivo utilizados, sobre el crecimiento de los hongos.

procesamiento de los mismos (TABLA 159), lo cual indicó que los ingredientes utilizados ni el proceso las afectaron.

Como puede observarse, el tratamiento 4) de la TABLA 160 presentó el mayor número de plantas crecidas en el invernadero y también la mayor colonización micorrícica. Estas fueron las proporciones que se tomaron como base para la siguiente experiencia (ver Materiales y Métodos, apartado 6.2). Cuando se estudió el efecto de distintas cantidades de inóculo de micorriza y de turba, se comprobó que el peso seco por planta y la micorrización se favorecieron significativamente cuando se utilizó el formulado B (TABLA 161), razón por la cual se prepararon así los "pellets" para usarlos en condiciones de campo.

#### 9. ENSAYO EXPERIMENTAL EN CONDICIONES DE CAMPO CON APLICACION DE "PELLETS".

El método de inoculación ensayado se mostró efectivo ya que la incorporación de "pellets" que contenían los dos endosimbiontes: *Rhizobium* y *Glomus* produjo un aumento significativo sobre la producción de materia seca, respecto al control sin HMAV (FIGURA 60).

En cuanto a los contenidos de nitrógeno y fósforo, fué significativamente superior cuando se incorporó alguno de los HMAV respecto al control (TABLA 162).

En las dos subsiguientes cosechas, los efectos sobre producción de forraje se mantuvieron, de manera

TABLA 159

PORCENTAJES DE GERMINACION DE LAS SEMILLAS DE MEDICAGO SATIVA  
AISLADAS DE LOS "PELLETS"

	DIAMETRO DEL "PELLET" (mm)	SEMILLAS* (g)	TURBA* (g)	GERMINACION (%)
1)	8	0.8	0	93**
2)	8	1.6	0	100
3)	8	3.2	0	81
4)	8	1.6	30	99
5)	8	3.2	30	98
6)	5	0.8	0	97
7)	5	1.6	0	100
8)	5	3.2	0	98
9)	5	0.8	30	96
10)	5	1.6	30	100

\* por cada 200 g de inóculo ; \*\* Media de 10 repeticiones

TABLA 160

EFFECTO DE LA SIEMBRA CON "PELLETS" SOBRE LA EMERGENCIA DE LAS PLANTAS DE ALFALFA Y SU MICORRIZACION

TRATAMIENTO*	Nro. PLANTAS POR "PELLET"		MICORRIZACION (%)	
	(a)	(b)	(a)	(b)
1)	2	2	21	49
2)	1	3	32	28
3)	4	4	46	35
4)	5	7	56	73
5)	4	5	24	27
6)	2	-	12	-
7)	1	1	7	13
8)	4	5	20	15
9)	2	3	39	47
10)	2	1	42	28

Nota (\*) Igual a los señalados en TABLA 159; (a) y (b) ="pellets" de 2 y 3 cm de longitud respectivamente. Cada dato es la media de 10 repeticiones

TABLA 161

EFFECTO DE LA PREPARACION DE DIFERENTES FORMULADOS SOBRE EL  
 CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS DE ALFALFA Y SU MICORRIZACION

FORMULADO	PESO SECO PARTE AEREA (g)		MICORRIZACION (%)
	por "PELLET"	por PLANTA	
A <sup>1</sup>	0.463 b*	0.117 b	30 b
B	0.578 b	0.141 a	70 a
C	0.808 a	0.116 b	45 b

Nota (1)= los formulados empleados se corresponden con los  
 señalados en la sección 6.2 de Materiales y Métodos

Nota (\*) datos con igual letra no presentan diferencias  
 significativas. Prueba de Duncan con  $p=0.05$

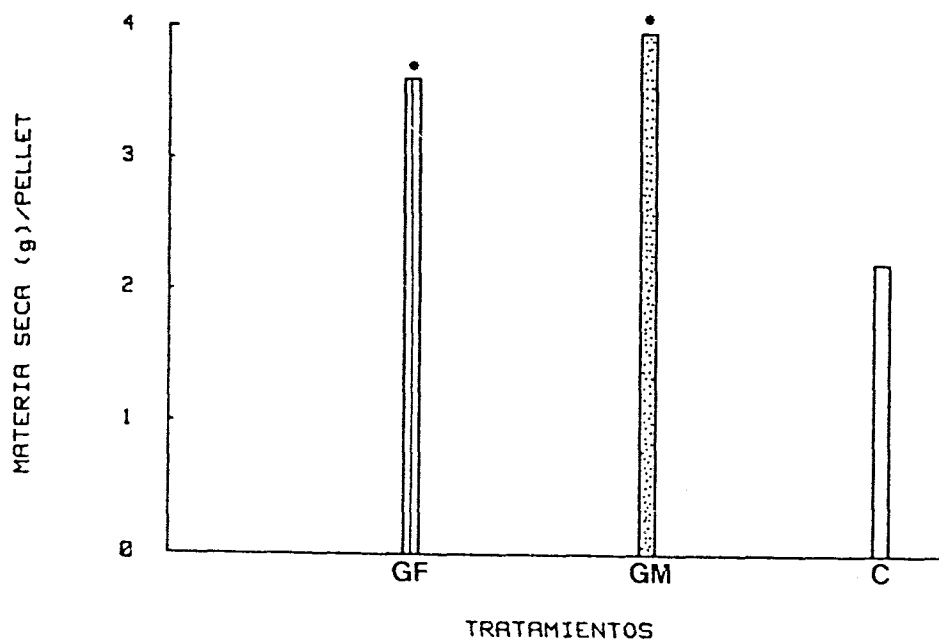
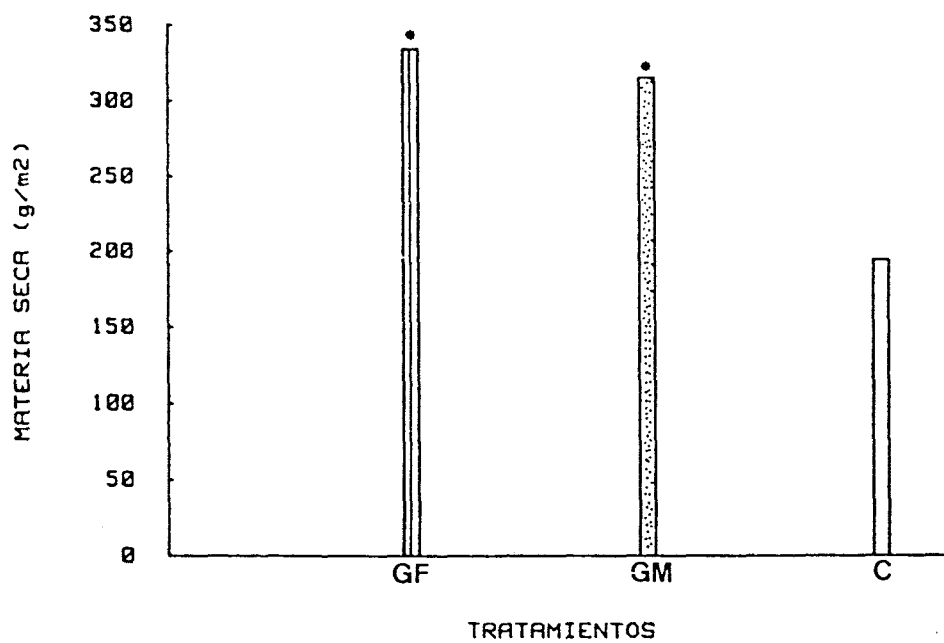


FIGURA 60. Efecto de la incorporación de "pellets" en un suelo de Granada sobre la producción de materia seca en *Medicago sativa*. Ira. COSECHA. Tratamientos: GF y GM, incorporación de *Glomus fasciculatum* y *Glomus mosseae*; C, control con suelo estéril. (\*) difieren significativamente, prueba de Tukey,  $p = 0.01$ .

TABLA 162

EFFECTO DE LA APLICACION DE "PELLETS" EN UN SUELO DE GRANADA  
 SOBRE EL CONTENIDO DE NUTRIENTES EN ALFALFA. 1a. COSECHA

FORMULADO B INCLUYENDO:	CONTENIDO (mg.pellet <sup>-1</sup> )	
	NITROGENO	FOSFORO
G. fasciculatum	159.84 a*	11.03 a
G. mosseae	157.58 a	11.37 a
suelo estéril	88.13 b	6.66 b

Nota (\*) Los datos seguidos de igual letra no difieren significativamente. Prueba de Tukey , p= 0.01



significativa, igual que en la primera, indicando una estimulación estable y buena sobrevivencia de los hongos inoculados (FIGURAS 61 Y 62).

También los contenidos de nitrógeno fueron mayores para los tratamientos que contenían HMAV en tanto que para fósforo hubo aumentos significativos cuando se incluyó a *G. fasciculatum* (TABLAS 163 Y 164).

#### 10. ENSAYOS SOBRE PRODUCCION DE "PELLETS" PARA INOCULACION DE ALFALFA EN SUELOS ACIDOS.

Como se observa en la TABLA 165, el formulado F, cuya preparación fue descrita en el capítulo de Materiales y Métodos, favoreció la neutralización del contenido de los "pellets". También, el agregado de los 25 ml de carbonato de calcio fué compatible con la micorrización y nodulación posteriores de alfalfa (TABLA 165).

Cuando estos "pellets" se prepararon con diferentes cantidades de semillas y se sembraron en pequeñas parcelas en el campo, en aquellos que tenían 2 g de semilla germinaron mejor y su micorrización fué elevada (TABLA 166).

#### 11. APLICACION EXPERIMENTAL DE "PELLETS" EN UN CAMPO DE LA LOCALIDAD DE 9 DE JULIO, PROVINCIA DE BUENOS AIRES.

Los "pellets", preparados de acuerdo a los

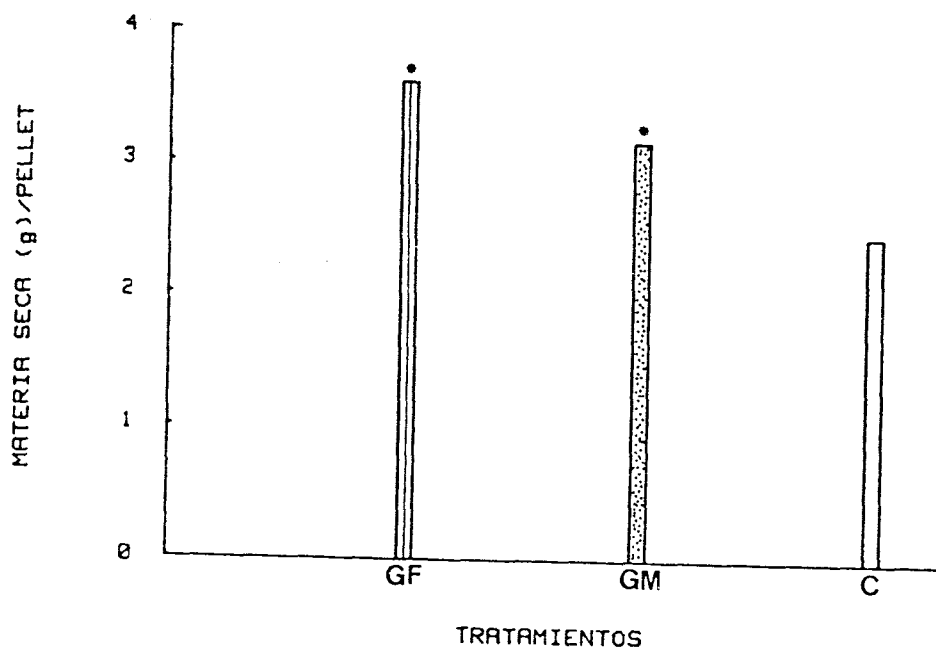
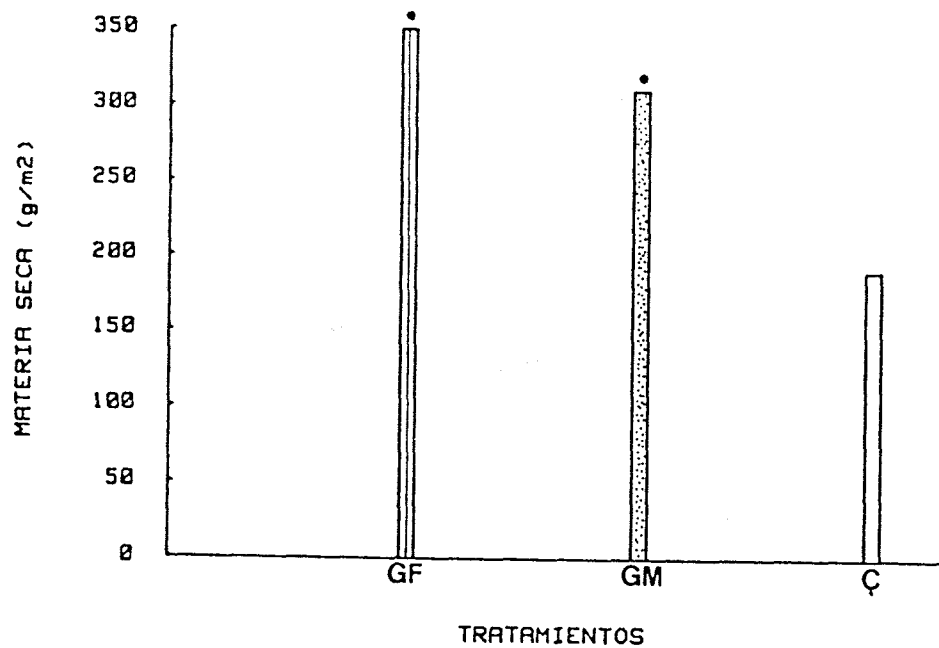


FIGURA 61. Efecto de la incorporación de "pellets" en un suelo de Granada sobre la producción de materia seca en *Medicago sativa*. 2da. COSECHA. Abreviaturas y notas igual que en Figura 60.

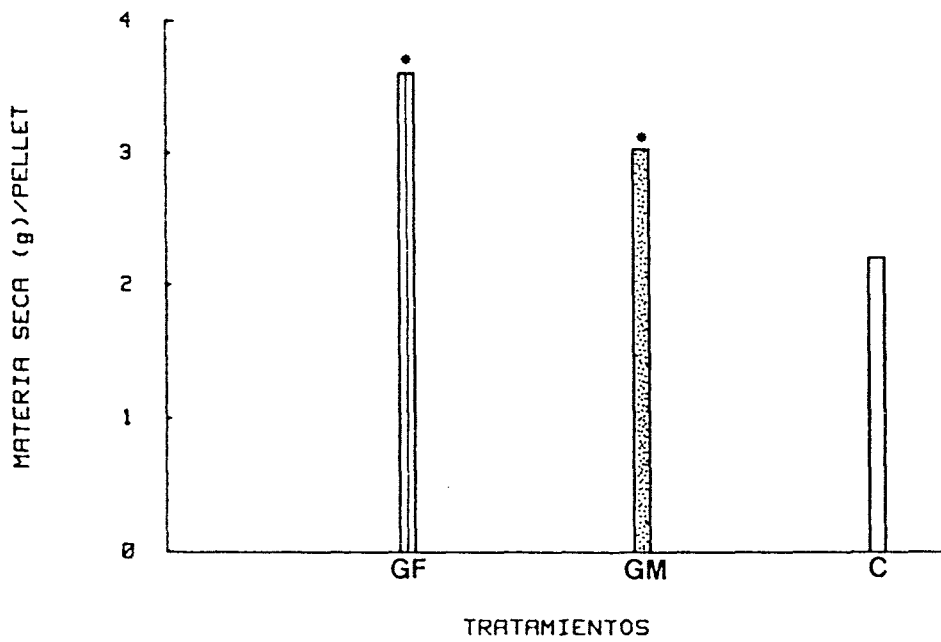
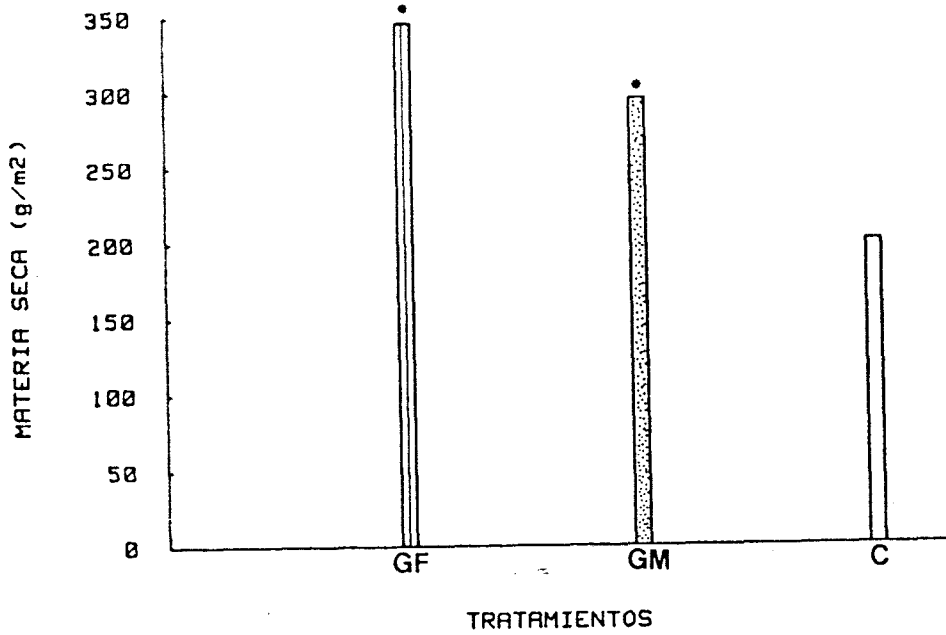


FIGURA 62. Efecto de la incorporación de "pellets" en un suelo de Granada sobre la producción de materia seca en Medicago sativa. 3ra. COSECHA. Abreviaturas y notas igual que en Figura 60.

TABLA 163

EFFECTO DE LA APLICACION DE "PELLETS" EN UN SUELO DE GRANADA  
 SOBRE EL CONTENIDO DE NUTRIENTES EN ALFALFA. 2a. COSECHA

FORMULADO B INCLUYENDO:	CONTENIDO (mg.pellet <sup>1</sup> )	
	NITROGENO	FOSFORO
G. fasciculatum	148.74 a*	11.84 a
G. mosseae	127.05 a	9.57 ab
suelo estéril	88.80 b	6.72 b

Notas (\*) igual que en TABLA 162

TABLA 164

EFFECTO DE LA APLICACION DE "PELLETS" EN UN SUELO DE GRANADA  
 SOBRE EL CONTENIDO DE NUTRIENTES EN ALFALFA. 3a.COSECHA

FORMULADO B INCLUYENDO:	CONTENIDO (mg.pellet <sup>1</sup> )	
	NITROGENO	FOSFORO
G. fasciculatum	147.60 a*	11.16 a
G. mosseae	117.78 b	9.06 ab
suelo estéril	82.50 c	5.72 b

Notas (\*) igual que en TABLA 162

TABLA 165

EFFECTO DEL AGREGADO DE CALCAREO SOBRE LA MICORRIZACION Y LA NODULACION DE LAS PLANTAS DE ALFALFA

FORMULADO	Nro. PLANTAS por "PELLET"	pH DEL "PELLET"	MICORRIZACION (%)	NODULACION
D	5	4.0-4.2	25	escasa
E	6	4.7-4.9	27	escasa
F	5	6.7-7.0	42	excelente
G	7	7.5-8.2	37	excelente

Nota: pH de los "pellets" tomado de muestras antes de la siembra

TABLA 166

EFFECTO DEL AGREGADO DE DIFERENTES CANTIDADES DE SEMILLAS DE ALFALFA EN EL FORMULADO F, SOBRE LA EMERGENCIA DE LAS PLANTAS Y LA MICORRIZACION

SEMILLAS (g)	Nro. "PELLETS" CON PLANTAS SOBRE Nro. TOTAL SEMBRADOS	MICORRIZACION (%)
1.0	7 / 25	72
1.5	10 / 25	75
2.0	25 / 25	76
3.0	23 / 25	68

tratamientos señalados en la sección de Materiales y Métodos, presentaron buena emergencia de las plantas y mantuvieron el pH neutro (TABLA 167) los efectos producidos sobre el crecimiento de la plantas, en la primer cosecha fueron significativamente superiores para todos los tratamientos respecto al control (FIGURA 63), particularmente, la combinación *Glomus epigaeum* + *Rhizobium meliloti* (GE+R).

En la segunda cosecha, este mismo tratamiento citado, o la inoculación con la bacteria solamente provocaron la mayor producción de forraje (FIGURA 64).

En la tercer cosecha, si bien, el efecto producido por *Glomus epigaeum* + *Rhizobium*, se mantuvo en forma significativa las diferencias entre los tratamientos fueron menores (FIGURA 65). Estas diferencias se tornaron no significativas en el cuarto corte de alfalfa; sin embargo, cuando los resultados se expresaron como peso seco cosechado por "pellets" la inoculación con *Glomus epigaeum* produjo efectos significativamente mayores (FIGURA 66).

En un análisis general, acumulando cantidades de forraje cosechadas, obviamente la doble inoculación con *Glomus epigaeum* + *Rhizobium* tuvo el mayor efecto (FIGURA 67) si lo comparamos con una práctica tradicional, como es la inoculación con *Rhizobium*, su incremento en materia seca fué del orden del 8% y, si se lo relaciona con el control, donde se puso en evidencia la población nativa del suelo su incremento en materia seca fué del orden del



TABLA 167

NUMERO DE SEMILLAS GERMINADAS Y pH DE LOS "PELLETS" DE CADA TRATAMIENTO UTILIZADO EN LOS ENSAYOS EN CAMPO DE CASTELAR Y 9 DE JULIO

CASTELAR			9 DE JULIO		
TRATAMIENTO	Nro.semillas germinadas por "pellet"	pH (*)	TRATAMIENTO	Nro.semillas germinadas por "pellet"	pH (*)
G.epigaeum	11.2	7.2	G.epigaeum	9.3	7.0
G.mosseae	10.5	6.9	G.fasciculatum	8.6	6.9
R.meliloti	7.5	7.3	R.meliloti	4.4	7.0
G.ep.+ R.m.	9.11	7.2	G.e.+ R.m.	9.3	7.1
G.m. + R.m.	7.2	6.9	G.f.+ R.m.	7.3	7.0
control	---	7.5	control	4.0	7.1

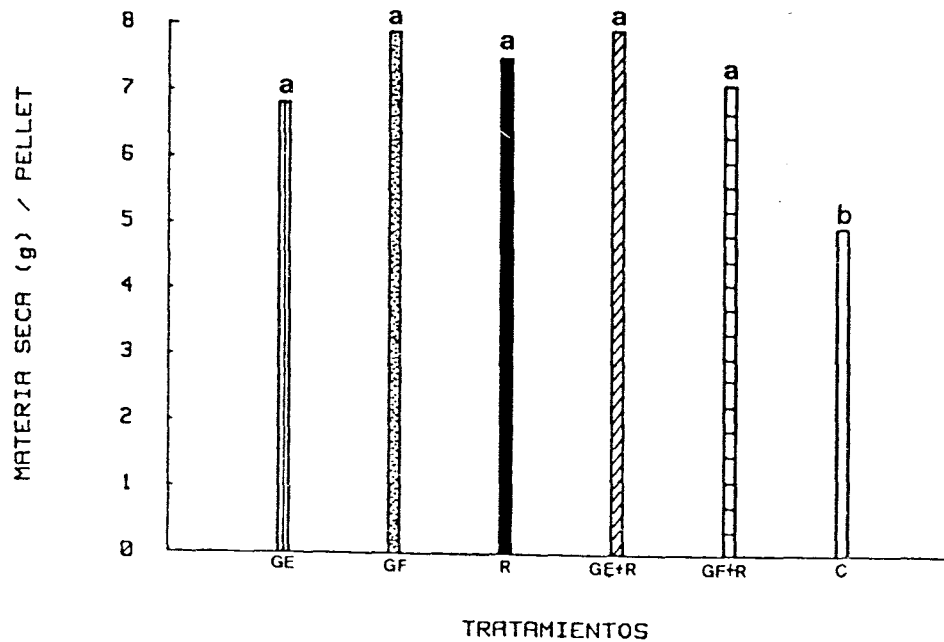
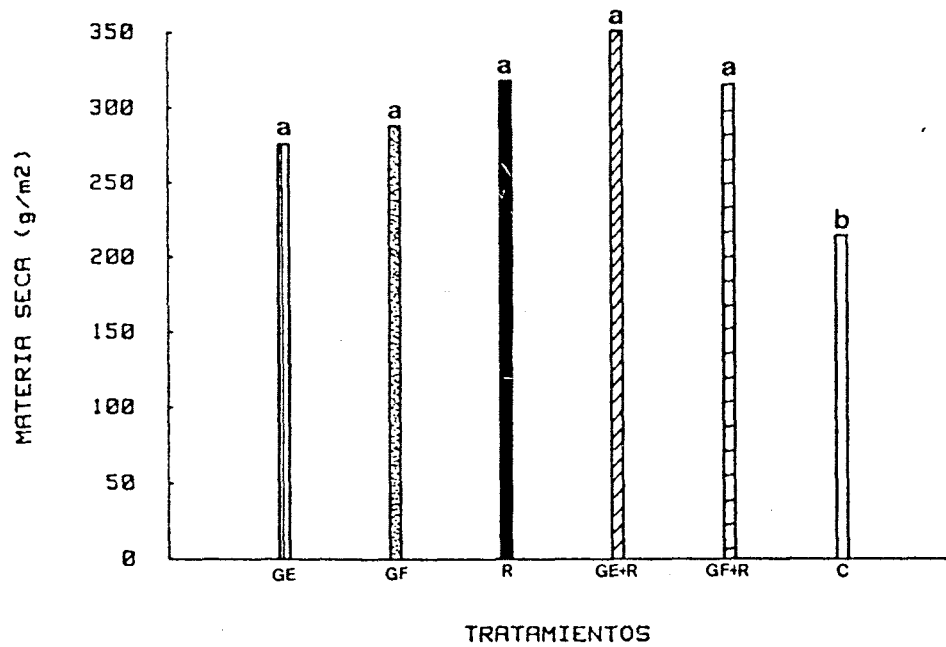


FIGURA 63. Efecto de la incorporación de "pellets" en un suelo de 9 de Julio sobre la producción de materia seca en *Medicago sativa* Lra. COSECHA. Tratamientos: GE, GF y R, incorporación de *Glomus epigaeum*, *Glomus fasciculatum* y *Rhizobium meliloti*; C, control con suelo estéril. Tratamientos con igual letra no difieren significativamente, prueba de Tukey,  $p = 0.05$ .

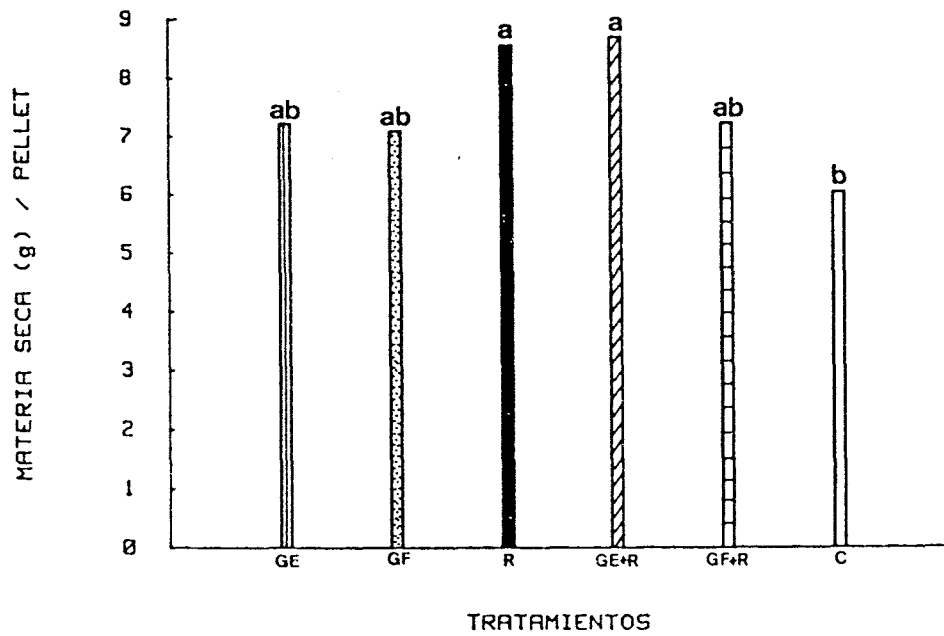
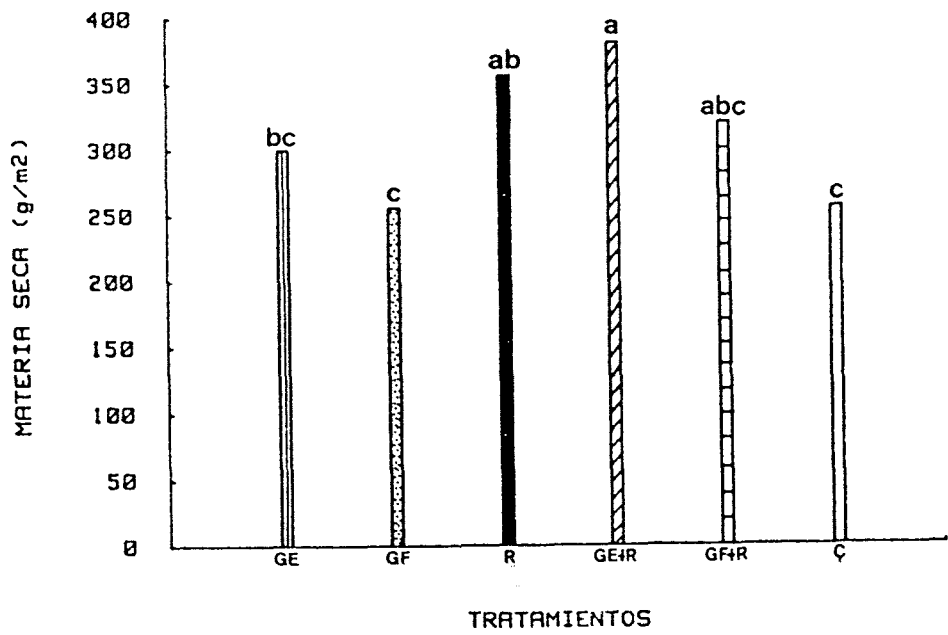


FIGURA 64. Efecto de la incorporación de "pellets" en un suelo de 9 de Julio sobre la producción de materia seca en *Medicago sativa* 2da. COSECHA. Abreviaturas y notas igual que en Figura 63.

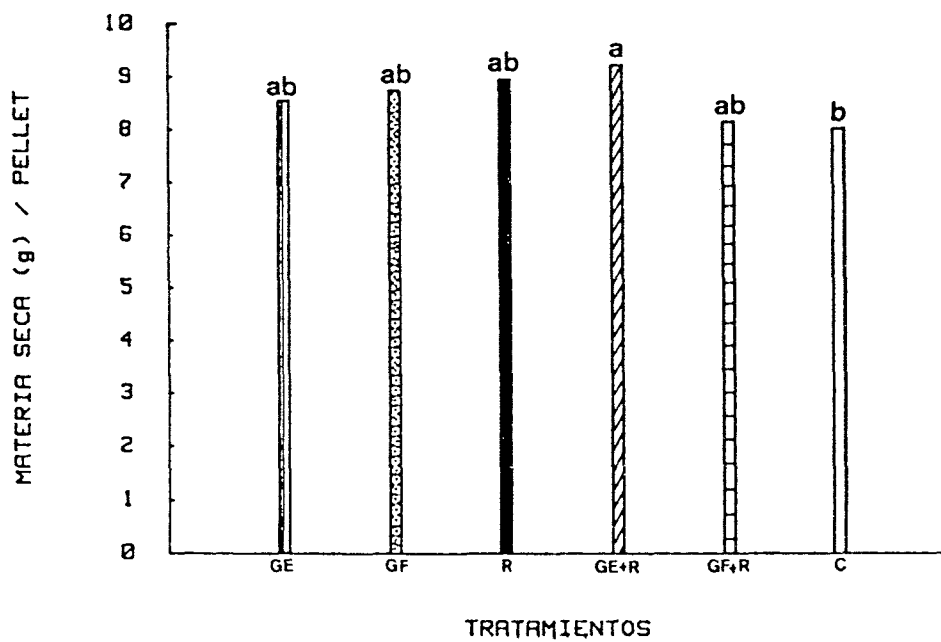
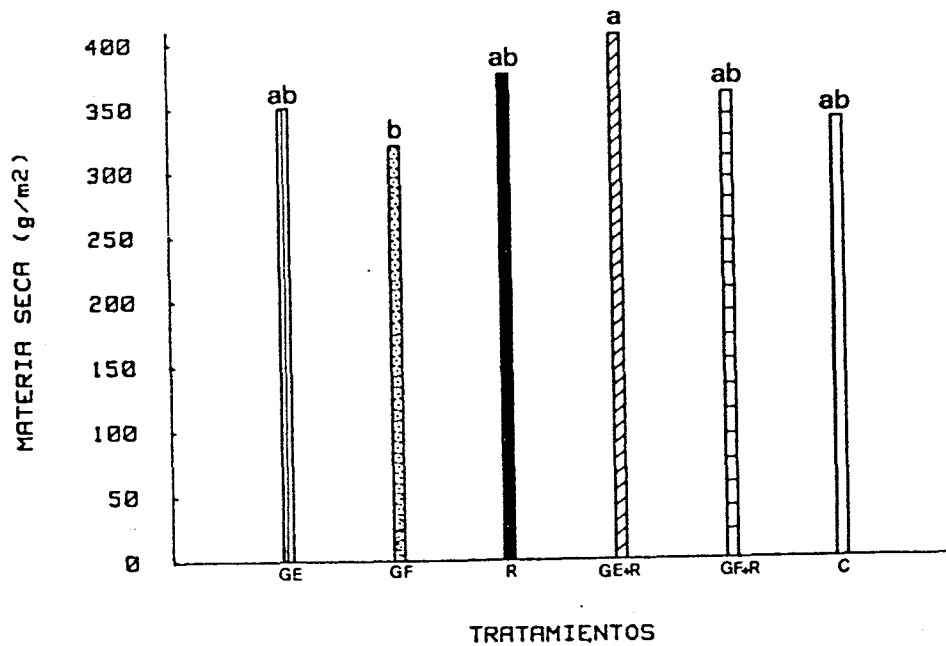


FIGURA 65. Efecto de la incorporación de "pellets" en un suelo de 9 de Julio sobre la producción de materia seca en Medicago sativa 3ra. COSECHA. Abreviaturas y notas igual que en Figura 63.

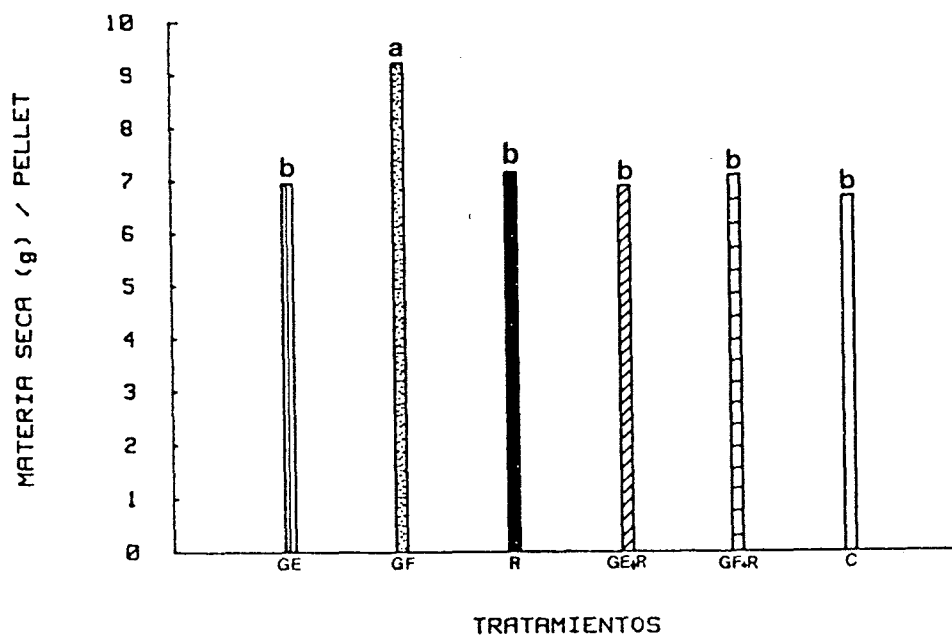
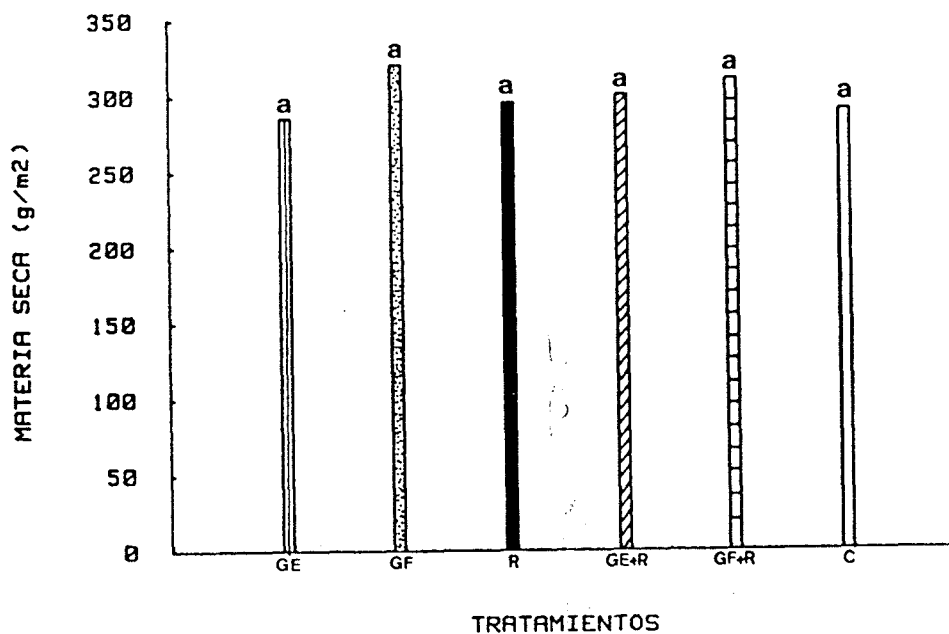


FIGURA 66. Efecto de la incorporación de "pellets" en un suelo de 9 de Julio sobre la producción de materia seca en Medicago sativa 4ta. COSECHA. Abreviaturas y notas igual que en Figura 63.

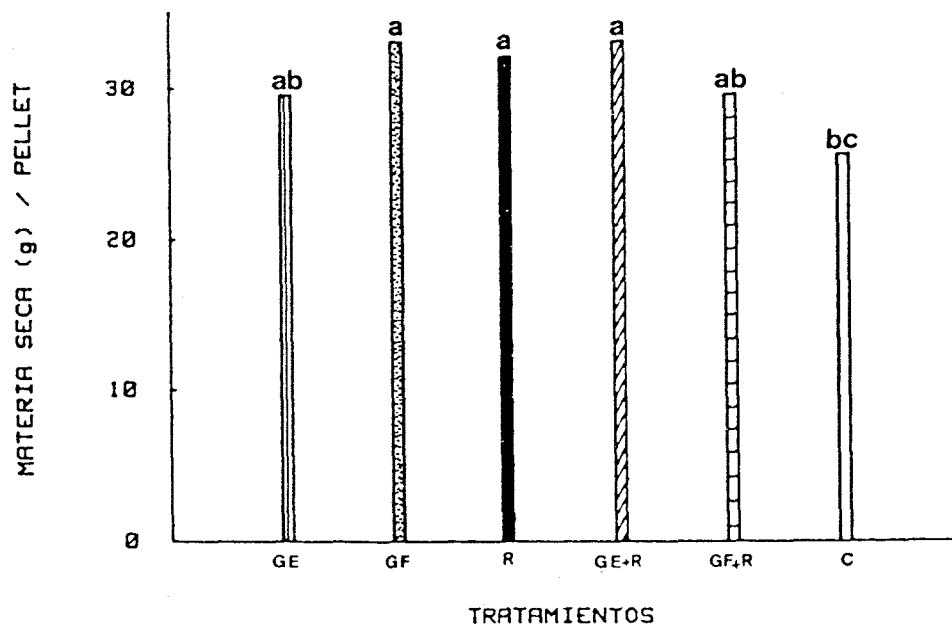
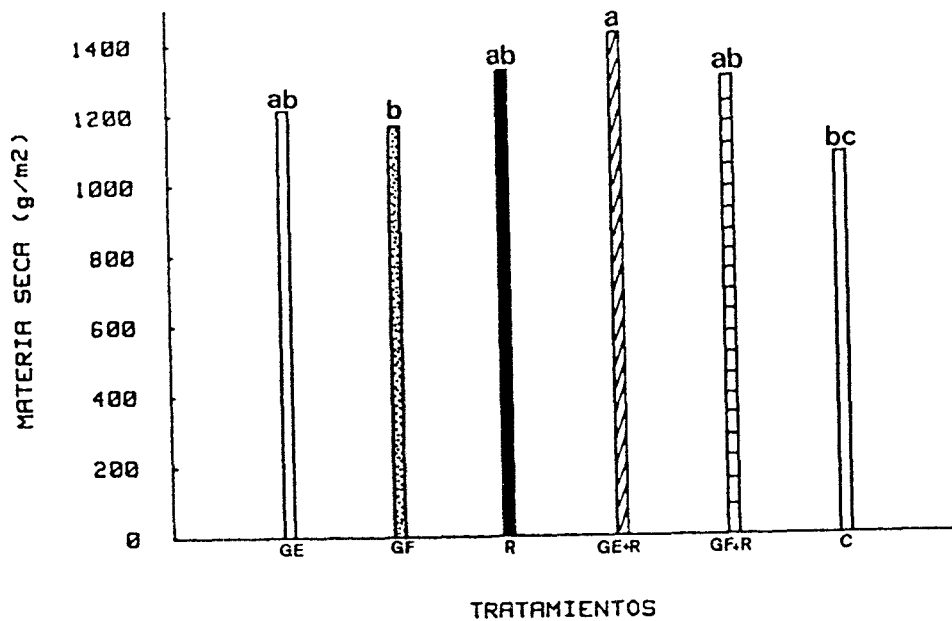


FIGURA 67. Efecto de la incorporación de "pellets" en un suelo de 9 de Julio sobre la producción de materia seca en Medicago sativa Sumatoria de las cuatro cosechas. Abreviaturas y notas igual que en Figura 63.

32%. Cuando se analizó la cantidad de materia seca obtenida al inocular con *Rhizobium* (R) respecto a la que se cosechó con cualquiera de los dos HMAV (media de GE y GF) se demuestra que fué del orden del 11%, lo que puso en evidencia que la población de HMAV nativas fue más sensible al efecto sinérgico de su co-simbionte el *Rhizobium*, que la de bacterias naturales de ese suelo respecto a los hongos micorrícicos empleados. Cabe destacar que el número más probable de microorganismos nativos en este suelo fué de 11 *Rhizobium meliloti* g s<sup>-1</sup> y 11 propágulos de HMAV g s<sup>-1</sup>.

Cuando se analizó el contenido en nitrógeno de materia seca por "pellet" en la primera cosecha todos los tratamientos tuvieron valores significativamente mayores que el control, (TABLA 168). En la segunda cosecha, los "pellets" conteniendo *G. epigaeum* + *Rhizobium* tuvieron un mayor valor y en la cuarta cosecha correspondió a los que incluían sólo a los HMAV (TABLAS 169 Y 170).

En cuanto al contenido en fósforo, si bien hay una tendencia a que todos los tratamientos superen al control, en forma efectiva lo hacen los que recibieron *G. epigaeum* + *Rhizobium* y *Rhizobium meliloti* solamente, en la primer cosecha, en tanto que en la segunda no hay diferencias y, en la tercera cosecha *G. fasciculatum* tuvo el máximo contenido (TABLAS 168, 169 Y 170).

Respecto al contenido en potasio, *G. epigaeum* + *Rhizobium* y *G. fasciculatum* solo, presentaron los mayores valores en la primer cosecha. En la segunda cosecha

nuevamente la combinación de *G. epigaeum* + *Rhizobium* y también los "pellets" que incluían *Rhizobium* tuvieron mayor contenido en potasio. En la cuarta cosecha, sin embargo el único tratamiento que dió contenido en potasio significativamente diferente fué el que llevó *G. fasciculatum* (TABLAS 168, 169 Y 170).

## 12. APLICACION EXPERIMENTAL DE "PELLETS" EN EL CAMPO EXPERIMENTAL DEL INTA CASTELAR, PROVINCIA DE BUENOS AIRES.

Los "pellets" preparados igual que para el ensayo anterior, sólo que usando *G. mosseae* en lugar de *G. fasciculatum*, tuvieron buena emergencia de las plantas y mantuvieron el pH cercano a la neutralidad (TABLA 167). La población nativa de microorganismos detectada por el número más probable dió valores de 14 R. meliloti g s<sup>-1</sup> y 6 propágulos de HMAV g s<sup>-1</sup>

En la primera cosecha, la cantidad de materia seca por parcela, fué significativamente superior para todos los tratamientos respecto al control (FIGURA 68), especialmente tuvieron su efecto significativo los que portaban a los dos endosimbiontes (GE+R y GM+R), aunque cuando se compararon los tratamientos en producción de materia seca por "pellet", el mejor fué el inoculado con *Glomus mosseae* (GM).

En la segunda cosecha, los inoculados con *G. mosseae* (GM), *G. epigaeum* (GE) y la combinación de éste último con



TABLA 168

EFFECTO DE LA APLICACION DE "PELLETS" EN UN SUELO DE 9 DE JULIO  
 SOBRE EL CONTENIDO DE NUTRIENTES EN ALFALFA. 1ra. COSECHA

MICROORGANISMO USADO	CONTENIDO (mg."pellet" <sup>-1</sup> )		
	NITROGENO	FOSFORO	POTASIO
G.epigaeum	174.2 a*	18.90 ab	243.7 b
G.fasciculatum	182.4 a	18.86 ab	291.6 a
R.meliloti	196.8 a	19.53 a	285.4 ab
G.ep.+ R.m.	199.6 a	19.88 a	296.5 a
G.f. + R.m.	193.4 a	17.06 ab	256.7 b
control	126.7 b	13.86 b	179.7 c

Nota (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 169

EFFECTO DE LA APLICACION DE "PELLETS", EN UN SUELO DE 9 DE JULIO,  
SOBRE EL CONTENIDO DE NUTRIENTES EN ALFALFA. 2da. COSECHA

MICROORGANISMO USADO	CONTENIDO (mg."pellet" <sup>-1</sup> )		
	NITROGENO	FOSFORO	POTASIO
G.epigaeum	231.7 b*	15.35 a	266.1 b
G.fasciculatum	228.8 b	16.19 a	228.8 cd
R.meliloti	253.9 ab	17.04 a	312.7 a
G.ep.+ R.m.	264.7 a	17.36 a	307.3 a
G.f. + R.m.	185.8 c	14.46 a	253.8 bc
control	169.2 c	13.20 a	211.2 cd

Nota (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 170

EFFECTO DE LA APLICACION DE "PELLETS" EN UN SUELO DE 9 DE JULIO  
 SOBRE EL CONTENIDO DE NUTRIENTES EN ALFALFA. 4ta. COSECHA

MICROORGANISMO USADO	CONTENIDO (mg."pellet" <sup>-1</sup> )		
	NITROGENO	FOSFORO	POTASIO
G.epigaeum	549.4 b*	13.98 ab	427.1 ab
G.fasciculatum	655.0 a	19.32 a	565.8 a
Rhizobium meliloti	467.7 c	14.99 a	461.2 b
G.ep.+ R.m.	417.1 d	13.03 b	456.9 b
G.f. + R.m.	478.7 c	14.76 a	426.0 b
control	439.6 cd	13.26 ab	454.8 b

Nota (\*) igual que en TABLA 20

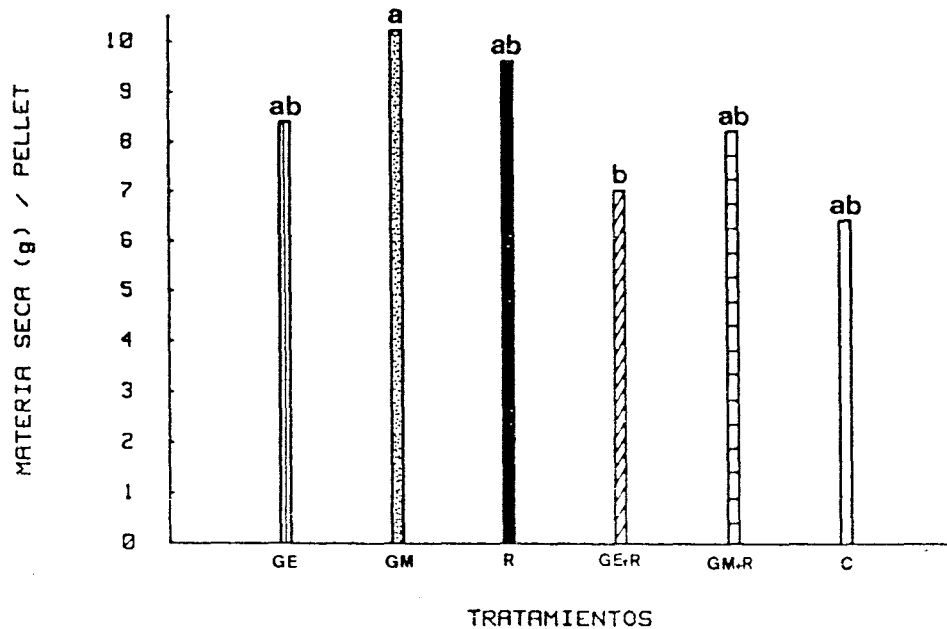
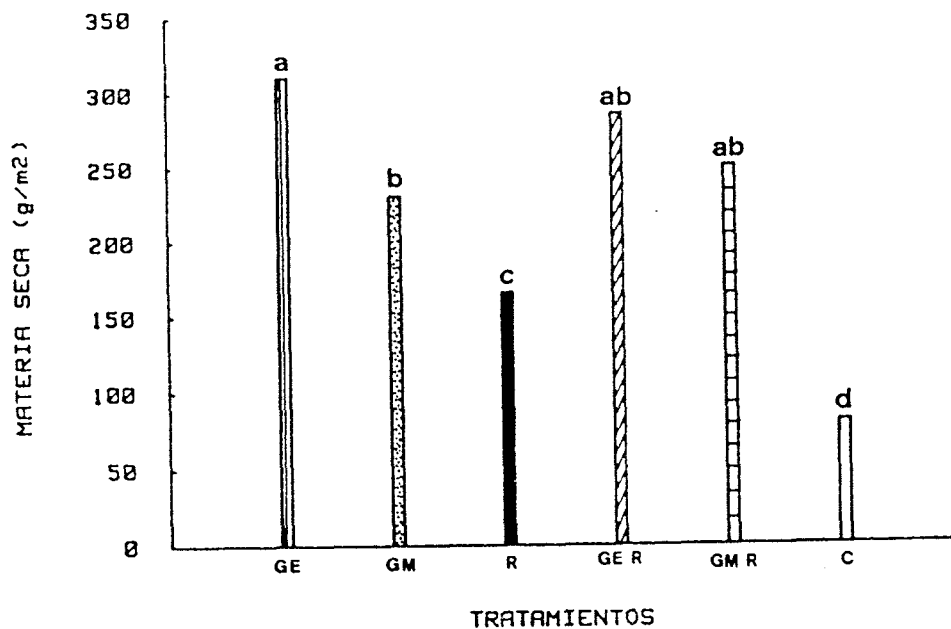


FIGURA 68. Efecto de la incorporación de "pellets" en el Campo Experimental del INTA Castelar sobre la producción de materia seca en *Medicago sativa*. 1ra. COSECHA. Tratamientos: GE, GM y R, incorporación de *G.epigaeum*, *G.mosseae* y *R.meliloti*, C, control con suelo estéril. Notas (\*) igual que en Figura 63.

Rhizobium (GE+R) dieron la mayor producción en forraje, superando todos al control (FIGURA 69). También en peso seco por "pellets" aventajó al inoculado con *G. mosseae* (GM), igualmente significativo que el que tenía *Rhizobium meliloti* (R).

En el tercer corte, la cantidad de materia seca fué mucho mayor para la combinación *G. epigaeum* + *Rhizobium* (FIGURA 70). Sin embargo, en peso seco por "pellet" fué mayor cuando se inoculó sólo con *Rhizobium* (R) o sólo con *G. mosseae* (GM).

En la última cosecha, todos los tratamientos superaron al control y hubo tendencia a que la cantidad de materia seca, en la combinación *G. epigaeum* + *Rhizobium*, fuera la mayor (FIGURA 71). No ocurrió lo mismo respecto al peso seco por "pellet" donde el inoculado con *Rhizobium* aumentó significativamente dicho parámetro.

Cuando se analizó globalmente el peso seco de todas las cosechas (FIGURA 72), el mejor tratamiento fué la inoculación conjunta de *G. epigaeum* y *Rhizobium* y todos superaron al control. Cuando se comprobó el peso seco por "pellet" los inoculados con *Rhizobium* solamente y, en segundo término aquellos en los que se incluyó *Glomus mosseae* (GM) fueron los únicos en superar al control. Al comparar los rendimientos por parcela, se demostró que el inoculado con *G. epigaeum* y *Rhizobium* tuvo un incremento en materia seca del 65 % respecto a la inoculación tradicional con *Rhizobium* y cuando se utilizó sólo el HMAM *G. epigaeum* fué del 43%. En el caso de *Glomus mosseae*, con

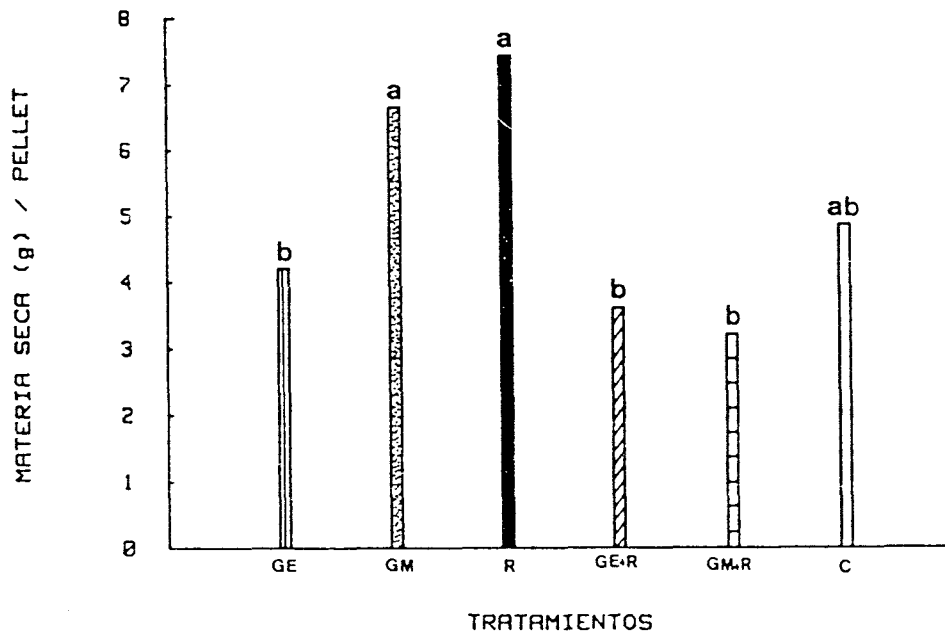
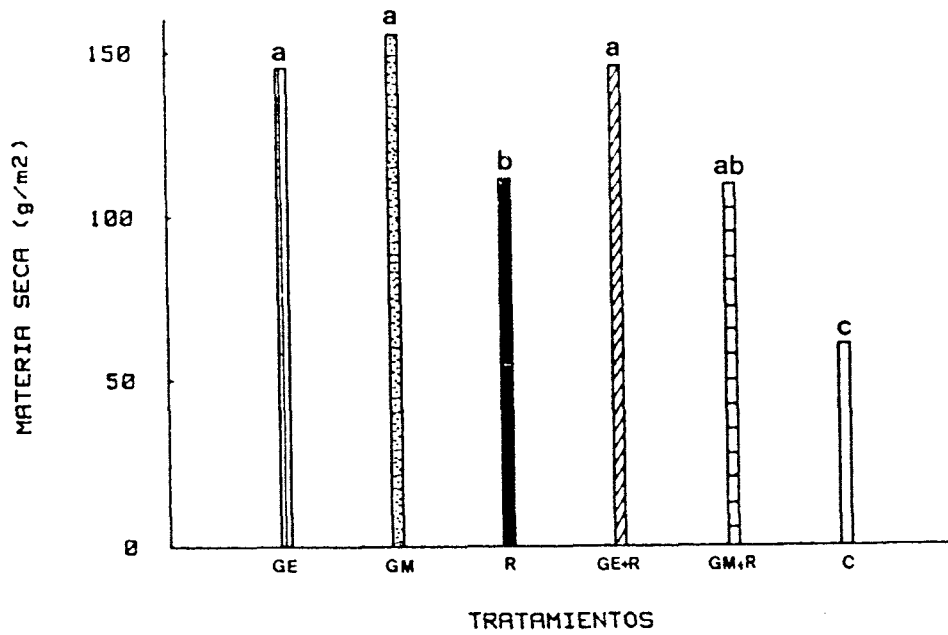


FIGURA 69. Efecto de la incorporación de "pellets" en el Campo Experimental del INTA Castelar sobre la producción de materia seca en Medicago sativa. 2da. COSECHA. Abreviaturas y notas igual que en Figura 63.

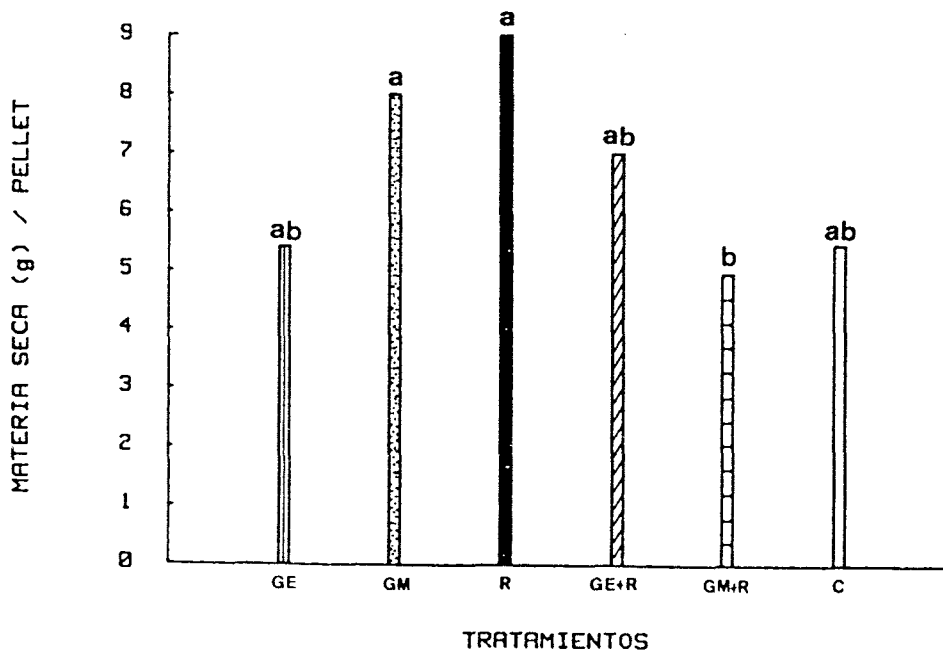
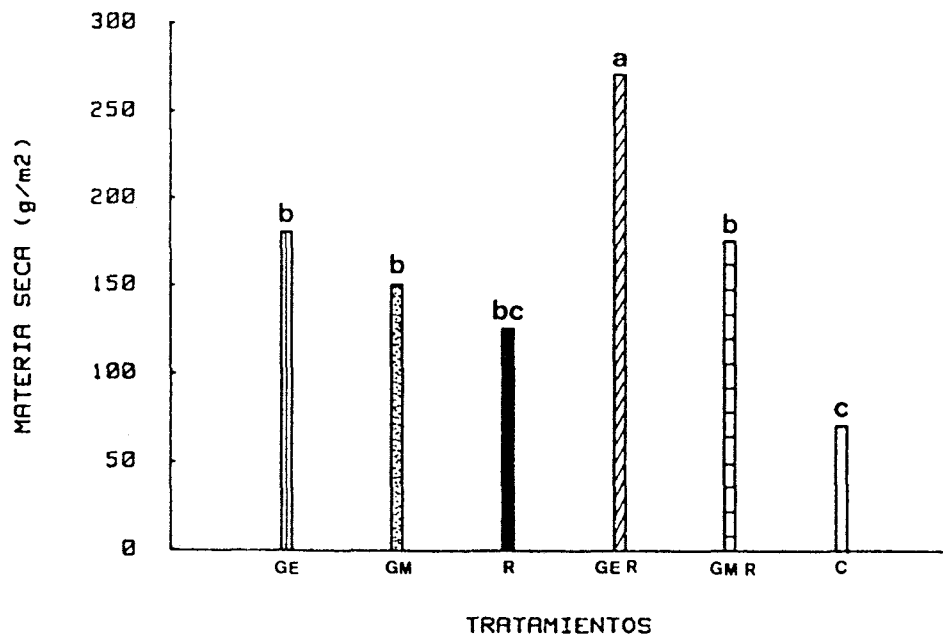


FIGURA 70. Efecto de la incorporación de "pellets" en el Campo Experimental del INTA Castelar sobre la producción de materia seca en Medicago sativa. 3ra. COSECHA. Abreviaturas y notas igual que en Figura 63.

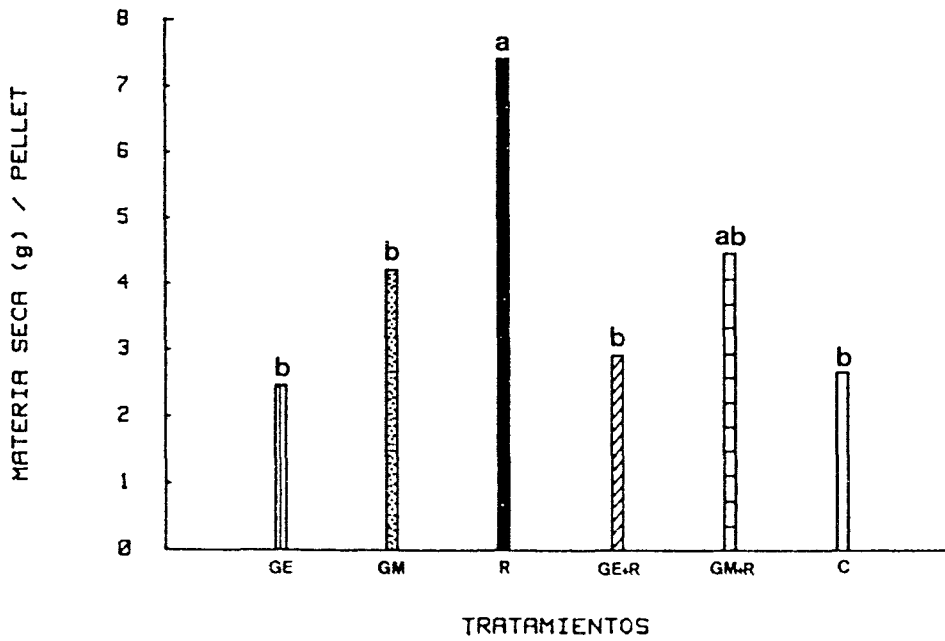
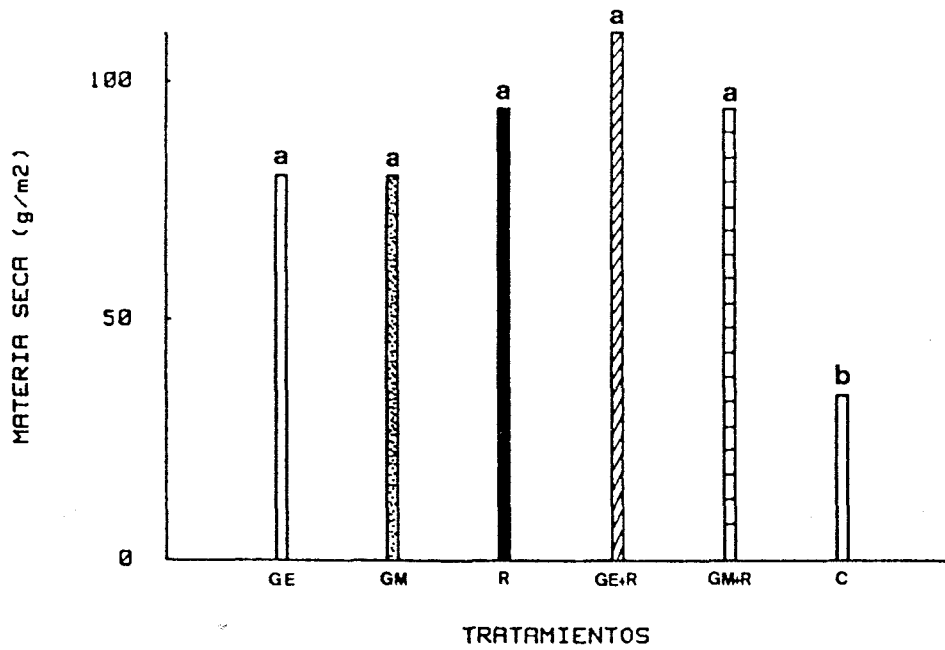


FIGURA 71. Efecto de la incorporación de "pellets" en el Campo Experimental del INTA Castelar sobre la producción de materia seca en Medicago sativa. 4ta. COSECHA. Abreviaturas y notas iguales que en Figura 63.



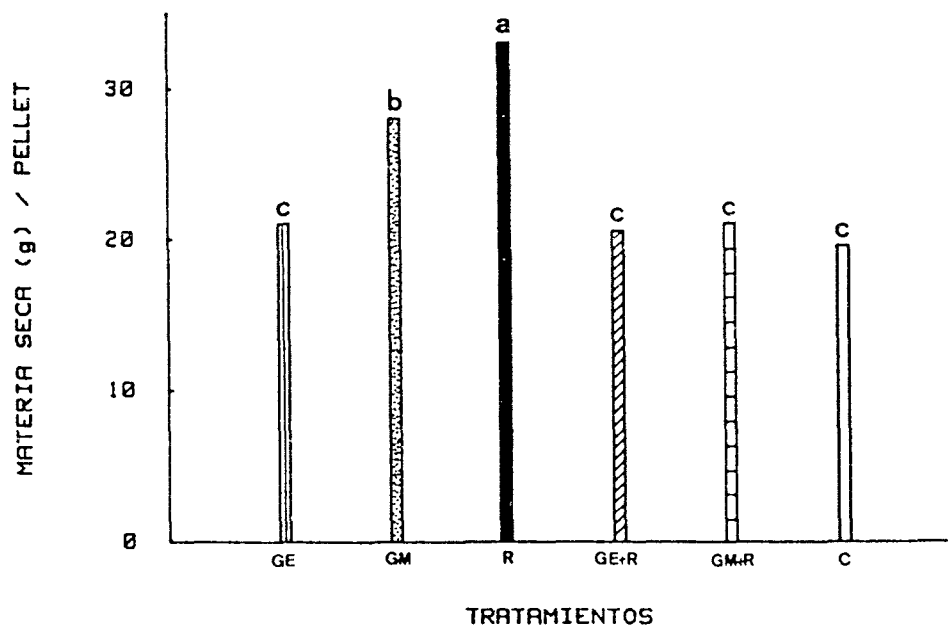
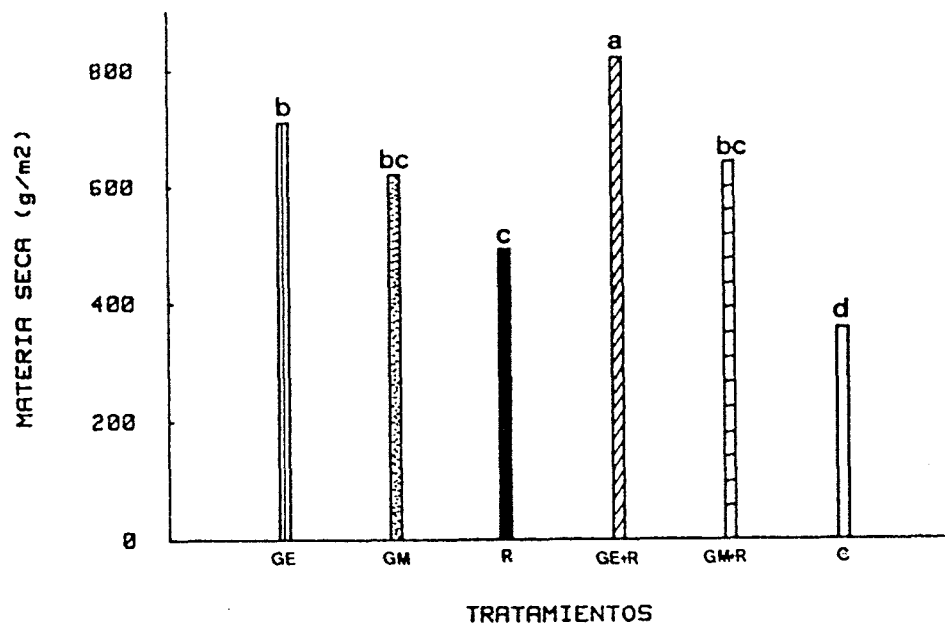


FIGURA 72. Efecto de la incorporación de "pellets" en el Campo Experimental del INTA Castelar sobre la producción de materia seca en Medicago sativa. Sumatoria de las cuatro cosechas. Abreviaturas y notas igual que en Figura 63.

o sin *Rhizobium*, sus datos con semejantes y el incremento fué del orden del 25%. Esto sugirió que *G. epigaeum* y *Glomus mosseae* fueron capaces de estimular a la población de *Rhizobium* nativos y que tuvieron un alto grado de competitividad respecto a sus homólogos micorrícicos nativos.

Cuando se analizó el contenido en nutrientes, en la primer cosecha, existió una tendencia general a que todos los tratamientos, tuvieran contenidos en N, P y K, superiores significativamente al control sin HMAV y sin bacterias (TABLA 171).

En tanto que, en la 2da y 3ra cosecha fueron los "pellets" que incluyeron *G. mosseae* o *Rhizobium* los que presentaron los mayores contenidos en los nutrientes estudiados (TABLA 172 y 173). En tanto que, en la cuarta cosecha, el tratamiento con *R. meliloti* superó al resto en contenido de nutrientes de materia seca (TABLA 174).

### 13. PRODUCCION DE INOCULOS DE MICORRIZAS ARBUSCO-VESICULARES.

#### 13.1 Colonización micorrícica.

Cuando se compararon globalmente, las susceptibilidades de las diferentes plantas cultivadas, en cualquiera de los medios de enriquecimiento usados, para formar micorrizas, el maíz demostró ser el más colonizado

TABLA 171

EFEECTO DE LA APLICACION DE "PELLETS" EN EL CAMPO EXPERIMENTAL DEL INTA DE CASTELAR, SOBRE EL CONTENIDO DE NUTRIENTES EN ALFALFA  
1ra. COSECHA

MICROORGANISMO USADO	CONTENIDO (mg."pellet" <sup>-1</sup> )		
	NITROGENO	FOSFORO	POTASIO
G.epigaeum	258.5 ab*	17.12 a	217.4 a
G.mosseae	271.0 a	17.12 a	232.0 a
R.meliloti	261.3 a	17.23 a	222.0 a
G.ep.+ R.m.	223.0 b	14.16 ab	176.3 b
G.f. + R.m.	241.5 b	12.66 b	157.6 b

Nota (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 172

EFFECTO DE LA APLICACION DE "PELLETS" EN EL CAMPO EXPERIMENTAL DEL INTA DE CASTELAR, SOBRE EL CONTENIDO DE NUTRIENTES EN ALFALFA 2da. COSECHA

MICROORGANISMO USADO	CONTENIDO (mg."pellet"-)		
	NITROGENO	FOSFORO	POTASIO
G. epigaeum	112.9 c*	7.14 ab	99.1 b
G. mosseae	181.4 a	10.83 a	143.5 a
R. meliloti	184.5 a	11.12 a	149.6 a
G. ep. + R. m.	98.3 c	5.33 b	94.5 b
G. m. + R. m.	111.1 c	6.15 b	102.1 b
control	134.0 b	8.84 ab	120.8 ab

Nota (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 173

EFEECTO DE LA APLICACION DE "PELLETS" EN EL CAMPO EXPERIMENTAL DEL INTA DE CASTELAR, SOBRE EL CONTENIDO DE NUTRIENTES EN ALFALFA  
3ra. COSECHA

MICROORGANISMO USADO	CONTENIDO (mg."pellet" <sup>-1</sup> )		
	NITROGENO	FOSFORO	POTASIO
G.epigaeum	293.2 b*	8.20 a	217.7 c
G.mosseae	418.7 a	11.06 a	304.2 a
R.meliloti	405.4 a	11.64 a	345.5 a
G.ep.+ R.m.	405.5 a	9.07 a	258.3 b
G.m. + R.m.	254.9 c	6.14 a	181.3 d
control	225.2 c	7.67 a	197.8 cd

Nota (\*) igual que en TABLA 20

TABLA 174

EFFECTO DE LA APLICACION DE "PELLETS" EN EL CAMPO EXPERIMENTAL DEL INTA DE CASTELAR, SOBRE EL CONTENIDO DE NUTRIENTES EN ALFALFA 4ta. COSECHA

MICROORGANISMO USADO	CONTENIDO (mg. "pellet" <sup>-1</sup> )		
	NITROGENO	FOSFORO	POTASIO
G.epigaeum	172.8 d*	5.04 c	104.8 c
G.mosseae	271.2 c	8.74 b	172.2 b
R.meliloti	686.5 a	15.60 a	318.7 a
G.ep.+ R.m.	284.4 c	5.42 c	128.5 c
G.m. + R.m.	444.2 b	9.37 b	209.6 b
control	278.3 c	5.68 c	139.7 c

Nota (\*) igual que en TABLA 20

por cualquiera de los hongos inoculados (TABLA 175).

Entre los tres hongos usados hubo diferencias significativas y *G. epigaeum* superó a *G. mosseae* y éste a *G. fasciculatum* (TABLA 176) estimándose en un sentido general este comportamiento.

De igual forma, cuando se comparó a los tres medios de cultivo utilizados, la arcilla expandida superó a los otros dos medios (TABLA 177).

### 13.2 Esporulación.

El análisis globalizado sobre la producción de esporas de todos los hongos inoculados en los cuatro hospedantes evaluados, demostró un efecto altamente significativo para las plantas de sorgo y, gradualmente descendiente para el resto como se lo indicó en la TABLA 178.

La esporulación no presentó la misma tendencia que la micorrización, pues en este caso también analizado globalmente, fué *G. fasciculatum* el que mayor número de esporas formó (TABLA 179).

Sí hubo coincidencia en el medio y, nuevamente, la arcilla expandida tuvo valores significativamente mayores (TABLA 180).

TABLA 175

EFFECTO GENERAL DEL USO DE DIFERENTES HOSPEDANTES SOBRE LA MICORRIZACION EN TODOS LOS MEDIOS DE CULTIVO EVALUADOS.

HOSPEDANTE	MICORRIZACION	
	(%)	(DT)
Zea mays	49.13	(44.5) a*
Sorghum vulgare	42.24	(40.4) b
Glycine max	41.56	(40.1) b
Allium cepa	34.69	(39.0) b

Nota (\*) igual que en TABLA 68, (DT) igual que en TABLA 2.



TABLA 176

EFFECTO GENERAL DE LA INOCULACION CON DIFERENTES HMAV SOBRE LA MICORRIZACION, EN TODOS LOS MEDIOS DE CULTIVO EMPLEADOS.

HMAV	MICORRIZACION	
	(%)	(DT)
G. epigaeum	46.42	(42.9) a*
G. mosseae	44.23	(41.6) b
G. fasciculatum	38.82	(38.5) c

Nota (\*) igual que en TABLA 68, (DT) igual que en TABLA 2

TABLA 177

EFEECTO GENERAL DE LA UTILIZACION DE DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO  
 SOBRE LA COLONIZACION MICORRICICA, EN TODOS LOS HONGOS Y  
 HOSPEDANTES EVALUADOS.

MEDIOS DE CULTIVO	MICORRIZACION	
	(%)	(DT)
Arcilla expandida	54.60	(47.6) a*
Suelo, arena y turba	38.37	(38.3) b
Suelo y arena	36.50	(37.2) b

Nota (\*) igual que en TABLA 68, (DT) igual que en TABLA 2

TABLA 178

EFFECTO GENERAL DEL USO DE DIFERENTES HOSPEDANTES, SOBRE LA PRODUCCION DE ESPORAS, EN TODOS LOS MEDIOS EVALUADOS.

HOSPEDANTE	NUMERO DE ESPORAS . 100 ml <sup>-1</sup>
Sorgum vulgare	225.40 a*
Zea mays	189.47 b
Allium cepa	166.18 c
Glycine max	139.24 d

Nota (\*) igual que en TABLA 68.

TABLA 179

EFFECTO GENERAL DE LA INOCULACION CON DIFERENTES HONGOS  
MICORRICICOS, SOBRE LA PRODUCCION DE ESPORAS, EN TODOS LOS  
MEDIOS EVALUADOS

HMAV	NUMERO DE ESPORAS. 100 ml <sup>-1</sup>
<i>G. fasciculatum</i>	209.02 a*
<i>G. epigaeum</i>	202.50 b
<i>G. mosseae</i>	128.70 c

Nota (\*) igual que en TABLA 68.

TABLA 180

EFFECTO GENERAL DE LA UTILIZACION DE DIFERENTES MEDIOS SOBRE LA PRODUCCION DE ESPORAS, EN TODOS LOS HONGOS Y HOSPEDADORES EVALUADOS

MEDIOS	NUMERO DE ESPORAS . 100 ml <sup>-1</sup>
Arcilla expandida	222.73 a*
Suelo y arena	159.70 b
Suelo, arena y turba	157.78 b

Nota (\*) igual que en TABLA 68.

13.3. Grado de micorrización y esporulación cuando se inoculó con *Glomus epigaeum* y las plantas se cultivaron en:

a) Suelo y arena.

En este medio de enriquecimiento la tendencia fué a que se micorrice más el maíz y formen más esporas el sorgo y la soja (TABLA 181).

b) Suelo, arena y turba.

La mayor colonización micorrícica se produjo, en forma significativa, con maíz o sorgo y con éste último se formaron más esporas (TABLA 182).

c) Arcilla expandida.

El sorgo y el maíz permitieron una mayor colonización del hongo inoculado. El primero y la cebolla dieron el mayor número de esporas (TABLA 183).

13.4. Grado de micorrización y esporulación cuando se inoculó con *Glomus fasciculatum* y las plantas se cultivaron en:

a) Suelo y arena.

El maíz y la cebolla dieron mayores valores de micorrización en tanto que el primero mencionado y el sorgo promueven a mayor esporulación (TABLA 184).

B) Suelo, arena y turba.

Todos los hospedadores, excepto el sorgo, tuvieron igual micorrización mientras que éste último y el maíz llegaron

TABLA 181

GRADO DE MICORRIZACION Y PRODUCCION DE ESPORAS DE DIFERENTES  
HOSPEDANTES INOCULADOS CON G.EPIGAEUM Y CULTIVADOS EN SUELO Y  
ARENA

HOSPEDANTES	MICORRIZACION		NUMERO DE ESPORAS 100 ml <sup>-1</sup>
	(%)	(DT)	
A. cepa	28.2	(32.1) c*	190.4 ab
G. max	40.0	(39.2) b	214.4 a
S. vulgare	42.6	(40.7) b	205.0 a
Z. mays	48.0	(43.8) a	166.4 b

Nota (\*) igual que en TABLA 68 , (DT) igual que en TABLA 2

TABLA 182

GRADO DE MICORRIZACION Y PRODUCCION DE ESPORAS DE DIFERENTES  
HOSPEDANTES INOCULADOS CON G.EPIGAEUM Y CULTIVADOS EN SUELO,  
ARENA Y TURBA

HOSPEDANTES	MICORRIZACION		NUMERO DE ESPORAS 100 ml <sup>-1</sup>
	(%)	(DT)	
A. cepa	30.6	(33.6) b*	192.4 b
G. max	33.8	(35.6) b	121.8 d
S. vulgare	47.2	(43.4) a	225.2 a
Z. mays	51.2	(45.7) a	145.6 c

Nota (\*) igual que en TABLA 68, (DT) igual que en TABLA 2



TABLA 183

GRADO DE MICORRIZACION Y PRODUCCION DE ESPORAS DE DIFERENTES  
HOSPEDANTES INOCULADOS CON G.EPIGAEUM Y CULTIVADOS EN ARCILLA  
EXPANDIDA

HOSPEDANTES	MICORRIZACION		NUMERO DE ESPORAS 100 ml <sup>-1</sup>
	(%)	(DT)	
A. cepa	34.4	(35.9) c*	321.0 b
G. max	59.4	(45.7) b	118.0 c
S. vulgare	75.2	(60.1) a	402.4 a
Z. mays	66.2	(54.4) a	127.4 c

Nota (\*) igual que en TABLA 68, (DT) igual que en TABLA 2

TABLA 184

GRADO DE MICORRIZACION Y PRODUCCION DE ESPORAS DE DIFERENTES  
HOSPEDANTES INOCULADOS CON G.FASCICULATUM Y CULTIVADAS EN  
SUELO Y ARENA

HOSPEDANTES	MICORRIZACION		NUMERO DE ESPORAS 100 ml <sup>-1</sup>
	(%)	(DT)	
A. cepa	38	(38.1) a*	129.8 b
G. max	36.8	(37.4) ab	136.8 b
S. vulgare	29.6	(33.0) b	215.0 a
Z. mays	37.4	(37.7) a	217.2 a

Nota (\*) igual que en TABLA 68, (DT) igual que en TABLA 2

a producir un número de esporas significativamente mayor (TABLA 185).

c) Arcilla expandida.

La soja y el sorgo tuvieron una colonización micorrícica mayor y este último un mayor número de esporas (TABLA 186).

13.5. Grado de micorrización y esporulación cuando se inoculó con *Glomus mosseae* y las plantas se cultivaron en:

a) Suelo y arena.

El maíz fué el más micorrizado en tanto que la soja y, en menor cuantía el maíz produjeron significativamente más esporas (TABLA 187).

b) Suelo, arena y turba.

El maíz presentó la mayor micorrización y número de esporas, en esta variable se asemejó al efecto producido por la soja (TABLA 188).

c) Arcilla expandida.

Las plantas de cebolla fueron las que dieron un nivel de micorrización mas alto y las de maíz las que tuvieron el mayor número de esporas (TABLA 189).

13.6. Efectos producidos sobre el crecimiento de la cebolla por los diferentes HMAV cuando crecieron en :

a) suelo y arena.

TABLA 185

GRADO DE MICORRIZACION Y PRODUCCION DE ESPORAS DE DIFERENTES  
HOSPEDANTES INOCULADOS CON G.FASCICULATUM Y CULTIVADAS EN SUELO,  
ARENA Y TURBA

HOSPEDANTES	MICORRIZACION (%)	(DT)	NUMERO DE ESPORAS 100.ml <sup>-1</sup>
A. cepa	35.8	(36.8) a*	144.0 b
G. max	38.8	(38.5) a	144.8 b
S. vulgare	31.4	(34.1) b	231.0 a
Z. mays	35.6	(36.6) a	219.2 a

Nota (\*) igual que en TABLA 68, (DT) igual que en TABLA 2

TABLA 186

GRADO DE MICORRIZACION Y PRODUCCION DE ESPORAS DE DIFERENTES  
HOSPEDANTES INOCULADOS CON G.FASCICULTUM Y CULTIVADOS EN  
ARCILLA EXPANDIDA

HOSPEDANTES	MICORRIZACION (%)	(DT)	NUMERO DE ESPORAS.100 ml <sup>-1</sup>
A. cepa	43.8	(41.4) ab*	203.8 c
G. max	49.8	(44.9) a	116.0 d
S. vulgare	48.4	(44.1) a	42.72 a
S. vulgare	40.4	(39.5) b	323.4 b

Nota (\*) igual que en TABLA 68, (DT) igual que en TABLA 2

TABLA 187

GRADO DE MICORRIZACION Y PRODUCCION DE ESPORAS DE DIFERENTES HOSPEDANTES INOCULADOS CON G.MOSSEAE Y CULTIVADOS EN SUELO Y ARENA

HOSPEDANTES	MICORRIZACION		NUMERO DE ESPORAS 100 ml <sup>-1</sup>
	(%)	(DT)	
A. cepa	35.0	(36.3) b*	96.2 c
G. max	30.0	(33.2) bc	127.4 a
S. vulgare	24.8	(29.9) c	104.8 bc
Z. mays	47.4	(43.5) a	113.0 ab

Nota (\*) igual que en TABLA 68, (DT) igual que en TABLA 2

TABLA 188

GRADO DE MICORRIZACION Y PRODUCCION DE ESPORAS DE DIFERENTES  
HOSPEDANTES INOCULADOS CON G.MOSSEAE Y CULTIVADOS EN SUELO,  
ARENA Y TURBA

HOSPEDANTE	MICORRIZACION (%)	(DT)	NUMERO DE ESPORAS 100 ml <sup>-1</sup>
A. cepa	43.4	(41.2) ab*	97.4 b
G. max	36.8	(37.4) b	138.6 a
S. vulgare	24.0	(29.3) c	96.6 b
Z. mays	51.8	(46.0) a	134.4 a

Nota (\*) igual que en TABLA 68, (DT) igual que en TABLA 2

TABLA 189

GRADO DE MICORRIZACION Y PRODUCCION DE ESPORAS DE DIFERENTES  
HOSPEDANTES INOCULADOS CON G.MOSSEAE Y CULTIVADOS EN ARCILLA  
EXPANDIDA

HOSPEDANTES	MICORRIZACION (%)	(DT)	NUMERO DE ESPORAS 100 ml <sup>-1</sup>
A. cepa	68.0	(55.6) a*	120.6 b
G. max	48.4	(44.1) c	133.0 b
S. vulgare	57.0	(49.0) b	121.4 b
Z. mays	64.2	(53.3) ab	258.6 a

Nota (\*) igual que en TABLA 68, (DT) igual que en TABLA 2



*Glomus fasciculatum* estimuló más el desarrollo de los vástagos y raíces, aunque el efecto producido por *G. mosseae* en el desarrollo de raíces fué semejante (TABLA 190).

b) Suelo-arena y turba.

*Glomus mosseae* se diferenció significativamente por los efectos producidos sobre el crecimiento de las plantas y *Glomus fasciculatum* le siguió en orden de importancia por los valores de peso seco obtenidos (TABLA 191).

c) Arcilla expandida.

Nuevamente *Glomus mosseae* y, en segundo lugar, *Glomus fasciculatum* produjeron los mayores valores de peso seco en raíces y tallos (TABLA 192).

13.7. Efectos producidos sobre el crecimiento de la soja por los diferentes HMAV cuando crecieron en:

a) Suelo y arena.

*Glomus epigaeum* fué el HMAV que más favoreció el desarrollo de las plantas, en tanto que tuvieron igual efecto *G. fasciculatum* y *G. mosseae* (TABLA 193).

b) Suelo, arena y turba.

*Glomus fasciculatum* tuvo los efectos más pronunciados sobre la cantidad de materia seca, en tanto que los otros dos HMAV presentaron un efecto parecido (TABLA 194).

c) Arcilla expandida.

*Glomus epigaeum* fué significativamente más estimulante del crecimiento de las plantas a pesar de que los otros dos HMAV también superaron el control sin HMAV (TABLA 195).

TABLA 190

EFFECTO DEL USO DE SUELO Y ARENA PARA LA MULTIPLICACION DE HMAV  
INOCULADOS EN A.CEPA

HMAV	Peso Seco P.Aérea (g)	Peso Seco Raíz (g)	PSA:PSR
G. epigaeum	4.60 b*	5.02 b	0.91
G. fasciculatum	5.55 a	5.80 a	0.90
G. mosseae	4.60 b	5.38 a	0.85
sin HMAV	2.78 c	3.00 c	0.93

Nota(\*) igual que en TABLA 68, PSA:PSR igual que en TABLA 3

TABLA 191

EFECTO DEL USO DE SUELO, ARENA Y TURBA PARA LA MULTIPLICACION DE  
HMAV INOCULADOS EN A.CEPA

HMAV	Peso Seco P.Aérea (g)	Peso Seco Raíz (g)	PSA:PSR
G. epigaeum	4.98 c*	4.52 b	1.10
G. fasciculatum	5.78 b	5.88 a	0.98
G. mosseae	6.36 a	5.62 a	1.13
sin HMAV	3.08 d	2.76 c	1.11

Nota (\*) igual que en TABLA 68, PSA:PSR igual que en TABLA 3

TABLA 192

EFFECTO DEL USO DE ARCILLA EXPANDIDA PARA LA MULTIPLICACION DE  
HMAV INOCULADOS EN A.CEPA.

HMAV	Peso Seco P.Aérea (g)	Peso Seco Raíz (g)	PSA:PSR
G. epigaeum	5.34 c*	4.92 c	1.08
G. fasciculatum	6.18 b	6.00 b	1.03
G. mosseae	7.92 a	6.92 a	1.14
sin HMAV	3.02 d	2.78 d	1.08

Nota (\*) igual que en TABLA 68, PSA:PSR igual que en TABLA 3

TABLA 193

EFFECTO DEL USO DE SUELO Y ARENA COMO PARA LA MULTIPLICACION DE  
HMAV INOCULADOS EN G.MAX.

HMAV	Peso Seco P.Aérea (g)	Peso Seco Raíz (g)	PSR:PSR
G. epigaeum	19.04 a*	5.70 a	3.40
G. fasciculatum	18.70 b	5.44 b	3.43
G. mosseae	16.74 b	5.38 b	3.11
sin HMAV	11.32 c	3.94 c	2.87

Nota (\*) igual que en TABLA 68, PSA:PSR igual que en TABLA 3

TABLA 194

EFFECTO DEL USO DE SUELO, ARENA Y TURBA PARA LA MULTIPLICACION DE HMAV INOCULADOS EN G.MAX.

HMAV	Peso Seco P.Aérea (g)	Peso Seco Raíz (g)	PSA:PSR
G. epigaeum	19.12 b*	6.60 b	2.90
G. fasciculatum	23.62 a	9.80 a	2.41
G. mosseae	18.60 b	6.50 b	2.86
Sin HMAV	11.74 c	4.12 c	2.85

Nota (\*) igual que en TABLA 68, PSA:PSR igual que en TABLA 3

TABLA 195

EFFECTO DEL USO DE ARCILLA EXPANDIDA PARA LA MULTIPLICACION DE  
HMAV INOCULADOS EN G.MAX.

HMAV	Peso Seco P.Aérea (g)	Peso Seco Raíz (g)	PSA:PSR
G. epigaeum	25.58 a*	9.44 a	2.71
G. fasciculatum	19.95 b	7.20 b	2.77
G. mosseae	18.00 b	6.78 b	2.65
sin HMAV	9.82 c	3.44 c	2.85

Nota (\*) igual que en TABLA 68, PSA:PSR igual que en TABLA 3

13.8. Efectos producidos sobre el crecimiento del sorgo, por los diferentes HMAV cuando crecieron en:

a) Suelo y arena.

Glomus epigaeum tuvo el mayor efecto significativo sobre la cantidad de materia seca producida, Glomus fasciculatum y G. mosseae superaron al control y no diferieron entre si (TABLA 196).

b) Suelo, arena y turba.

Glomus epigaeum, G. mosseae y G. fasciculatum, en ese orden de valores superaron al control sin HMAV (TABLA 197).

c) Arcilla expandida.

Este medio revirtió los efectos antes vistos y, fué G. fasciculatum el que produjo mayor cantidad de materia seca, en segundo término G. mosseae y, en menor cuantía el G. epigaeum (TABLA 198).

13.9. Efectos producidos sobre el crecimiento del maíz, por los diferentes HMAV, cuando crecieron en :

a) Suelo y arena.

Todos los HMAV superaron al testigo sin hongos, pero solamente en el peso seco de parte aérea (TABLA 199).

b) Suelo, arena y turba.

Al igual que en el medio anterior todos superaron al control sin HMAV en relación al peso seco de tallos y hojas, aunque hubo menos diferenciación, en los valores



TABLA 196

EFFECTO DEL USO DE SUELO Y ARENA PARA LA MULTIPLICACION DE  
HMAV INOCULADOS EN S.VULGARE.

HMAV	PSA (g)	PSR (g)	PSA:PSR
G. epigaeum	15.28 a*	11.42 a	1.34
G. fasciculatum	13.52 b	11.24 ab	1.20
G. mosseae	13.16 b	10.90 b	1.21
sin HMAV	12.46 c	10.82 b	1.15

Nota (\*) igual que en TABLA 68, PSA:PSR igual que en TABLA 3

TABLA 197

EFFECTO DEL USO DE SUELO, ARENA Y TURBA PARA LA MULTIPLICACION DE  
HMAV INOCULADOS EN S.VULGARE.

HMAV	PSR (g)	PSR (g)	PSA:PSR
G. epigaeum	15.84 a*	11.67 a	1.36 a
G. fasciculatum	13.78 c	11.50 ab	1.20 a
G. mosseae	14.74 b	11.14 b	1.32 a
sin HMAV	12.68 d	11.26 b	1.13 a

Nota (\*) igual que en TABLA 68, PSA:PSR igual que en TABLA 3

TABLA 198

EFFECTO DEL USO DE ARCILLA EXPANDIDA PARA LA MULTIPLICACION DE  
HMAV INOCULADAS EN S.VULGARE.

HMAV	PSA (g)	PSR (g)	PSA:PSR
G. epigaeum	15.42 c*	12.26 b	1.26
G. fasciculatum	18.64 a	15.80 a	1.18
G. mosseae	17.62 b	15.74 a	1.12
sin HMAV	12.78 d	11.52 c	1.11

Nota (\*) igual que en TABLA 68, PSA:PSR igual que en TABLA 3

TABLA 199

EFFECTO DEL USO DE SUELO Y ARENA PARA LA MULTIPLICACION DE HMAV  
 INOCULADOS EN Z. MAYS

HMAV	PSA (g)	PSR (g)	PSA:PSR
G. epigaeum	12.88 a*	11.20 a	1.15 a
G. fasciculatum	12.80 a	10.99 a	1.16 a
G. mosseae	12.80 a	10.80 a	1.18 a
sin HMAV	11.96 b	10.61 a	1.13 a

Nota (\*) igual que en TABLA 68, PSA:PSR igual que en TABLA 3

de peso seco de raíz. (TABLA 200).

c) Arcilla expandida.

*G. epigaeum* produjo un efecto superior a los otros HMAV y éstos a su vez superaron el control sin HMAV. (TABLA 201).

TABLA 200

EFFECTO DEL USO DE SUELO, ARENA Y TURBA PARA LA MULTIPLICACION DE HMAV INOCULADOS EN Z.MAYS.

HMAV	PSA (g)	PSR (g)	PSA:PSR
<i>G. epigaeum</i>	13.18 a*	11.45 a	1.15 a
<i>G. fasciculatum</i>	12.98 a	10.99 ab	1.18 a
<i>G. mosseae</i>	13.26 a	11.18 b	1.19 a
sin HMAV	12.46 b	10.90 b	1.14 a

Nota (\*) igual que en TABLA 68, PSA:PSR igual que en TABLA 3

TABLA 201

EFEECTO DEL USO DE ARCILLA EXPANDIDA PARA LA MULTIPLICACION DE  
HMAV INOCULADOS EN Z.MAYS.

HMAV	PSA (g)	PSR (g)	PSA:PSR
<i>G. epigaeum</i>	16.16 a*	14.60 a	1.11 a
<i>G. fasciculatum</i>	13.24 c	11.38 b	1.16 a
<i>G. mosseae</i>	15.60 b	13.69 c	1.14 a
Sin HMAV	12.66 d	10.93 d	1.16 a

Nota (\*) igual que en TABLA 68, PSA:PSR igual que en TABLA 3

## DISCUSSION



## V. DISCUSION.

### A. ENSAYOS CON SOJA.

#### 1. Evaluación de la micorrización natural en soja.

Si bien es normal que las leguminosas que crecen naturalmente o, en suelos cultivados, se micorricen; existe una gran variación cualitativa y cuantitativa tanto en el grado de micorrización como en la respuesta de la planta (Hayman, 1986) que plantea interrogantes acerca de la presencia de hongos nativos y su eficiencia para cada ecosistema en estudio.

En la leguminosa (objeto de estudio que nos ocupa), la soja, fué menester realizar una observación "in situ" para reconocer las características de los microsimbiontes asociados en un ambiente de cultivo manejado por el hombre; en especial porque la mayoría de los suelos agrícolas presentan gran diversidad en múltiples

características tanto físico-químicas como biológicas (Miller et al, 1979; Saito et al, 1983).

En todos los sitios muestreados, que corresponden a la región Mesopotámica de la Argentina, con suelos altamente deficientes en fósforo asimilable y con historias previas de fertilización fosfatada de 170-200 Kg P Ha<sup>-1</sup> se encontraron valores de colonización micorrícica en las plantas de soja que demostraron la susceptibilidad de las mismas a ser micorrizadas, tal como ha sido mencionado en numerosas publicaciones (Bethlenfalvay et al, 1985; Bagyaraj et al 1979, Ganry et al, 1982; Pacovsky y Fuller, 1986 entre muchos).

De acuerdo con el ciclo de vida del hongo, debiera existir un paralelismo con el desarrollo de la planta hospedadora. Llama la atención que en las observaciones realizadas en los estadios menos avanzados (R2 y R3) (Fehr, 1971) se haya encontrado mayor porcentaje de vesículas y, en los más avanzados (R5 y R6) sea mayor el de arbusculos. Esta situación podría asimilarse con el aumento en el desarrollo de vesículas descrito por Pacovsky et al (1986), luego de la nodulación de plantas de soja, lo cual coincidirá con los estadios reproductivos menos avanzados R2 y R5 (floración) del presente estudio.

Evidentemente, los cultivares de una misma especie difieren en su capacidad de micorrizarse ( Gerdeman 1968), tal como se observó para el cv Hood, el cual presentó el mayor grado de colonización micorrícica.

Fué, por tanto, necesario estudiar más detalladamente estas micorrizas observadas en soja para establecer las bases del manejo de esta simbiosis y su optimización.

## 2. COMPATIBILIDAD - PLANTAS - MICROSIMBIOTES.

De acuerdo con Abbott y Robson (1984), las respuestas de las plantas a la inoculación con diferentes HMAV, fué diferente según el sistema suelo-planta-hongo utilizado. Las propiedades físico-químicas de los mismos, influyeron notoriamente en las respuestas de las plantas micorrizadas. El contenido mas bajo en fósforo disponible y más alto en nitrógeno en el suelo "Negro", permitió la micorrización de las plantas que crecieron con un equilibrio de nutrientes balanceado (Barea y Azcón-Aguilar, 1983), en particular respecto al contenido de nitrógeno en tallos y hojas. En la nodulación se observa que, si bien el número de nódulos fué menor en este suelo, su desarrollo fué más voluminoso. Se supone que el mayor contenido de nitrógeno del suelo Negro, determinó este bajo número, pero su funcionamiento y crecimiento posterior estuvieron asegurados por una mejor nutrición de las plantas (Bethlenfalvay et al, 1982; Pacovsky et al, 1986).

Aunque los dos suelos se micorrizaron por igual, en el suelo Negro se destacaron respuestas diferenciadas que permitieron una selección de HMAV más compatibles con la soja: *G.epigaeum* en primer término, englobando las otras

respuestas consideradas antes, y *G. caledonium* I, en segundo lugar.

Respecto al suelo de Castelar, con escasa disponibilidad de fósforo (4.8 ppm) y, ligeramente ácido, cualquiera de los HMAV utilizados fue capaz de micorrizar las plantas de soja. Sin embargo, *G. mosseae* no mostró efectos distintos del control sin HMAV sobre el crecimiento o nutrición de la soja, quizá debido a su conocida preferencia por pH neutro (Hayman, 1983).

Cabe destacar los mejores desarrollos obtenidos en esta experiencia cuando las plantas se cultivaron en recipientes con mayor capacidad volumétrica, indicando una mayor necesidad de expansión y de exploración de las raíces para crecer.

### 3. DEPENDENCIA DE LA SOJA A LA MAV.

El peso seco de la parte aérea aumentó como una respuesta a la fertilización fosfatada en los dos suelos estudiados (Negro de Granada y el de Castelar) tal como se describe en trabajos relacionados (Bethlenfalvay et al, 1983; Pacovsky et al, 1986; Fernandes et al, 1987; entre los más recientes). El mismo efecto se observó respecto al crecimiento de raíces, pero sólo en el suelo de Castelar, porque en el suelo "Negro" hay un aumento en el peso de las raíces que responde a la primera dosis de fosfato y luego se mantiene sin diferencias con el aumento de fertilizante. Este hecho puede obedecer a la cantidad de

suelo usado, en este caso mucho menor, lo cual podría ocasionar un menor volumen para la expansión de las raíces. También se postula sobre un gasto extra en el crecimiento vegetativo de la parte aérea (Siqueira y Paula, 1986), ya que las concentraciones de nitrógeno, fósforo y potasio presentan un efecto semejante y podría deberse a una dilución de nutrientes en los tejidos ocasionada por el mencionado desarrollo de estructuras vegetativas. En este punto habría concordancia con unos resultados de Pacovsky y Fuller (1986) donde se señala que a altos niveles de fosfato no siempre se consiguen altos rendimientos porque puede resultar en proliferación de estructuras vegetativas.

Respecto a la incorporación de HMAV, el *Glomus epigaeum*, mantiene un efecto significativamente superior en todos los parámetros estudiados, excepto en la concentración de nitrógeno cuando se cultivan las plantas en el suelo de Castelar. Sigue la diferencia claramente si se considera el contenido de nitrógeno obtenido en este caso. También despierta la atención el menor grado de micorrización observada por esta especie fúngica, pero obviamente la más eficiente entre las dos usadas, en la soja crecida en el suelo Negro. Otros autores (Mosse, 1972; Cardoso, 1986) también han encontrado que no siempre existe una correlación entre porcentaje de micorrización y eficiencia. Así mismo, se ha demostrado, (Asimi et al, 1980) que la adición de fosfato reduce el porcentaje de raíz micorrizada pero no la longitud de raíz colonizada por un efecto de dilución del HMAV en los tejidos radicales, porque las raíces crecen más al, igual que

suele ocurrir con la concentración de nutrientes.

La micorrización fue inhibida por 100 ppm de fosfato en este suelo, sin embargo, en Castelar no se llegó a esta inhibición quizá debido a la diferencia de fósforo disponible del suelo sin fertilizar, mucho menor en el suelo de Castelar, que pudo determinar una tolerancia a mayores dosis de fertilizante.

#### 4. INTERACCION CON BRADYRHIZOBIUM.

La posibilidad de que una asociación tripartita sea funcional y eficiente dependerá de la compatibilidad de sus asociados. Los microsimbiontes han sido estudiados, en general, para poner de manifiesto el efecto estimulante de los HMAV sobre procesos importantes del hospedante como son su capacidad de fijación del N<sub>2</sub> o sus tasas de fotosíntesis (Harris et al, 1985; Pacovsky et al, 1986; Kawai y Yamamoto, 1986; Pacovsky, 1987; Brown et al, 1988; entre otros).

Los estudios están planteados así, en principio, porque se considera a la leguminosa y su Rhizobium específico como una unidad inseparable y se trata de que el sistema produzca mayores rendimientos con un costo biológico y energético bajo y, además, porque se conoce cierto grado de especificidad entre ellos que implica un rango menor de combinaciones posibles planta-Rhizobium. Sin embargo, a la luz de los conocimientos actuales, se sabe que existe gran variedad de cepas o estirpes, con una

serie de propiedades específicas que determinan una identidad geno y fenotípica distinta y adaptada, en muchas ocasiones, a variaciones específicas del ambiente en el que desarrollan, por ejemplo: pH del suelo, grado de fertilidad, etc.

También debe aceptarse que el sistema Rhizobium-leguminosa se maneja muy bien desde el punto de vista del conocimiento que se tiene sobre los requerimientos fisiológicos de estas bacterias y, en consecuencia, es factible producir inoculantes de Rhizobium para ser aplicados a grandes extensiones de cultivo.

Partiendo de la base, de que, hasta el momento actual no se ha conseguido un inoculante micorrízico factible de aplicar a dichas extensiones de terreno y, de que las cepas de Bradyrhizobium tienen capacidades diferentes para almacenar fósforo y utilizarlo (Cassman et al, 1981), fué práctico estudiar el efecto de inocular distintas cepas de Bradyrhizobium sobre la micorrización natural de un suelo donde se cultivó soja.

De acuerdo a lo esperado, se puso de manifiesto el efecto estimulador de las diferentes estirpes sobre las plantas, tanto en condiciones controladas como en el campo, y sobre la micorrización; coincidiendo además que las cepas con la que se obtenían mejores rendimientos en la planta también promovían más a la micorrización.

Esta situación permitirá un manejo indirecto sobre la estimulación de una población nativa de HMAV.

## 5. INTERACCIONES BRADYRHIZOBIUM - HMAV - SOJA.

### a) Referidos al desarrollo de parte aérea.

Analizando las experiencias realizadas desde un punto de vista globalizado, el primer aspecto que sobresale es el relativo a una diferencia en el comportamiento del HMAV inoculado a tiempo cero o a los 15 días. En el suelo "Negro" de Granada, con una disponibilidad de fósforo de 15.8 ppm, existe un aumento en el crecimiento cuando *Glomus epigaeum* se inocula a los 15 días (G15), en tanto que en el suelo de Castelar, con menor disponibilidad de fósforo (4.8 ppm), se obtiene mayor crecimiento cuando *G.epigaeum* se inocula desde el inicio (G0).

El bombeo adicional de fósforo por G0, desde el crecimiento de las plantas, activa la fotosíntesis y por ende promueven al crecimiento de las plantas (Brown y Bethlenfavay, 1986), en tanto que en el suelo "Negro" con menor disponibilidad de fósforo, le produce menor costo energético a la planta una micorrización más tardía (Harris et al, 1985). De igual manera, analizando a su co-simbionte, el *Bradyrhizobium*, se pone de manifiesto el mayor desarrollo de las plantas cuando se inocula a los 15 días desde la siembra (B15), tanto cuando se agrega fosfato como cuando se inocula con HMAV, a excepción del suelo Negro porque cuando se inocula con *G.epigaeum* a los 15 días, presenta iguales efectos si se suple el efecto de la bacteria con fertilizante nitrogenado, con B0 o con B15. Esto podría explicarse por una influencia del HMAV no-sistémica, no-mediada por el fósforo (Ames y Bethlenfalvay, 1987) e independientemente del metabolismo



nitrogenado de la planta .

Respecto al crecimiento a través del tiempo, en general es lineal, sólo cuando en el suelo Negro se agrega fertilizante fosfatado (P) se mantiene sin diferencias en las dos últimas evaluaciones.

b)Referente al desarrollo de raíces.

Se reproducen los efectos observados en parte aérea. En el suelo Negro de Granada es más efectivo la inoculación con *G.epigaeum* a los 15 días y en el de Castelar al tiempo cero (G0). También el *Bradyrhizobium* inoculado a los 15 días desde la siembra es, en términos generales, el más efectivo.

c) Referente de concentración de nitrógeno en parte aérea.

En el suelo Negro el porcentaje de N se mantuvo más alto cuando se adicionó nitrógeno al suelo (N) o *Bradyrhizobium* al tiempo cero (B0). Esto puede explicarse como un efecto de dilución de nutrientes a expensas de un mayor crecimiento vegetativo; para lo cual hay que comparar las plantas con B15 las cuales tienen mayor crecimiento de parte aérea respecto a los que recibieron N y B0.

La concentración se mantiene sin cambios en las 3 últimas evaluaciones, coincidentes con la floración y fructificación, donde la mayoría del nitrógeno se exporta para la formación de granos y comienza la senescencia de las hojas.

En el suelo de Castelar, más rico en N y materia

orgánica que el anterior, es mayor la concentración de nitrógeno cuando se inocula con *Glomus* al tiempo cero (G0) probablemente porque la micorriza establecida antes puede colaborar en el bombeo de nitrógeno hacia la planta o bien la misma planta absorberlo vías raíces con más facilidad porque hay más disponibilidad.

Cuando se adiciona fosfato (P), se obtiene mayor concentración de nitrógeno si además, se inocula con B0, aunque los contenidos son mayores con B15, por un mayor crecimiento de la parte aérea como se mencionó antes.

d) Referentes a la concentración de fósforo en parte aérea.

El suelo Negro con mayor cantidad de fósforo disponible, no ofrece diferencias para esta variable sea cual fuere la fuente de nitrógeno usada (N, B0 o B15). En el suelo de Castelar se obtuvieron mayores concentraciones en tallos y hojas cuando las plantas se micorrizaron, indicando la eficiencia de la micorriza para bombear fósforo desde el suelo a la planta (Stribley et al, 1980).

e) Referente a la concentración de potasio en parte aérea.

En este nutriente se presentan unos efectos similares a los del fósforo y, en particular, en el suelo de Castelar, se ve globalmente, que la micorriza (G0 y G15) colaboró significativamente en la provisión de este elemento a la planta (Tinker y Gildon, 1983).

f) Referente a la nodulación.

En todos los casos, la nodulación incrementó cuando se inoculó con *Bradyrhizobium* a los 15 días desde la siembra. Si bien se considera que los endofitos no compiten por los sitios de colonización (Barea y Azcón-Aguilar, 1983) y otros autores señalan que el establecimiento anterior del hongo inhibe el subsecuente desarrollo del nódulo (Bethlenfalvay et al, 1985; Ames y Bethlenfalvay, 1987) no observan interacción competitiva entre HMAV y *Rhizobium* por los sitios de nodulación en caupí, al igual que se observó en las experiencias aquí presentadas con soja. Tampoco se halló una inhibición del *Bradyrhizobium* por la introducción temprana de *Glomus* como lo señalan Brown y Bethlenfalvay (1986).

g) Referentes a la fructificación.

Los mejores rendimientos se obtienen con ambos microorganismos inoculados a los 15 días en el suelo Negro de Granada, sin embargo en Castelar es indispensable la micorrización para obtener mejores rendimientos y, la inoculación con *Bradyrhizobium* a los 15 días.

h) Efectos sobre la micorrización.

A pesar de los efectos sobre la nodulación y otras variables, de la bacteria inoculada a los 15 días (B15), para la micorrización es más eficiente la inoculación con *Bradyrhizobium* al tiempo cero (B0) esto es lógico si se considera el efecto estimulante que algunos autores describen de *Rhizobium* sobre las micorrizas (Azcón-Aguilar et al, 1980) y también apoya el sinergismo y la ausencia de competencia por los sitios de colonización de la raíz de los dos microorganismos. Obviamente que, sobre los

valores antes expuestos, a pesar de que el *Rhizobium* aumenta el porcentaje de micorrización cuando está presente desde el inicio del establecimiento de las plantas, la eficiencia de la micorriza se mantiene por igual ya que los rendimientos aumentan con la bacteria inoculada a los 15 días (B15).

En la descripción detallada de las estructuras que se fueron observando a lo largo del ciclo de vida de la planta, se notó que la mayor cantidad de arbusculos se formó con los dos microorganismos inoculados al tiempo cero (B0 G0) posiblemente porque el *Rhizobium* requiriera más tempranamente fuente fosfatada que si se lo agrega a los 15 días (B15 G0) donde, aparentemente la planta dispondría de mayor cantidad de nutrientes que permitirían la formación de más vesículas. Si el HMAV se inocula a los 15 días (G15) la presencia temprana del *Bradyrhizobium* estimula al HMAV para la mayor formación de apresorios pero la micorrización en general es menor.

## B. ENSAYOS CON ALFALFA.

### 1. Introducción "in vitro" de los microsimbiontes.

La germinación de esporas de HMAV en agar-agua ha sido observada para los tres hongos estudiados (Daniels y Graham, 1976; Green et al, 1976; Gunasekaran et al; 1987). En el presente estudio se ha corroborado esta situación la cual ha facilitado el posterior ensayo de interacción "in vitro" mediado por un trasplante de las esporas

germinadas y libres de contaminantes. Los ensayos de interacción se han basado en consideraciones previas de que los microorganismos del suelo pueden estimular el crecimiento hifas en la rizosfera (Mosse, 1972; Azcón Aguilar et al; 1980) y además en el hecho de que existe un efecto directo de dichos microorganismos sobre el desarrollo saprofítico "in vitro" de *G. mosseae* (Barea y Azcón Aguilar, 1982; Azcón Aguilar y Barea, 1985; Azcón, 1987).

*Rhizobium meliloti*, por ser co-simbionte obligado de HMAV en la alfalfa y, además por estar presente en la mayoría de los suelos donde se cultiva esta forrajera, ofrece la posibilidad de servir de estímulo al HMAV, como se confirma en cultivos "in vitro" puesto que ambos microorganismos (*Rhizobium* y HMAV) co-habitan el mismo sistema radical sinérgicamente.

De los resultados obtenidos resulta interesante destacar la diferencia en el comportamiento de los tres HMAV empleados, evidentemente *G. fasciculatum* resultó ser el más estimulado por el *Rhizobium* ya, que el número de vesículas secundarias formadas por espora fué superior a las descritas para *G. caledonium* (Hepper, 1979) y *G. mosseae* (Azcón Aguilar et al, 1986 a).

## 2. Ensayos de inoculación de HMAV en campo con aplicación de "pellets".

La necesidad de promover el desarrollo de nuevas

tecnologías micorrícicas tendientes a maximizar el incremento en los cultivos leguminosos, plantea actualmente el inconveniente de la escasez de ensayos en condiciones de campo debido a la dificultad que ofrece la multiplicación de los HMAV. Sin embargo, se ha considerado que la incorporación de semillas de trébol, *Rhizobium* e inóculo micorrícico mediante "pellets" (Hayman et al, 1986) puede hacerse extensivo para otras especies leguminosas con el fin primero de obtener información sobre la competitividad y de obtener información sobre inoculación dual. En las experiencias llevadas a cabo con alfalfa, una vez preparados los "pellets", se realizaron una serie de pruebas a los fines de corroborar algunos aspectos importantes de evaluar antes de la siembra en el campo cómo fueron la germinación de semillas, pH de los "pellets", nodulación y micorrización de las raíces.

En el ensayo llevado a cabo en Granada, se puso en evidencia un efecto altamente significativo de la inoculación con "pellets" cuando se incluyó al HMAV *G.fasciculatum* junto con el inóculo de *Rhrizobium* y en menor medida cuando se incorporó *G. mosseae* demostrándose efectos estimulantes sobre la producción de materia seca y contenido en N y P semejantes a los obtenidos por otros autores (Smith y Daft, 1977; Nielsen y Jensen, 1983; entre otros).

En el ensayo en 9 de Julio, con un suelo franco-arenoso muy rico en materia orgánica, se destacó en términos generales la combinación *Glomus epigaeum* + *Rhizobium* y el tratamiento que incluía sólo *Rhizobium*

meliloti por sus efectos sobre la producción de materia seca y el contenido de N, P y K, pero en la cuarta cosecha los mayores rendimientos por "pellets" en forraje y el contenido de nutrientes los promueve el tratamiento con *G.fasciculatum* y el resto de los tratamientos se homegeinizan en términos de valores obtenidos.

El hecho de que las diferencias entre los tratamientos anteriormente observados no se mantenga puede deberse a una dispersión de los microorganismos entre parcelas, situación que es totalmente factible debido a que si bien se tuvo cuidado en separar los tratamientos adecuadamente y en mantener los caminos libres de malezas, el micelio fúngico estimulado por el crecimiento de las plantas pudo extenderse en profundidad y longitud (Warner y Mosse, 1982).

En el ensayo de Castelar, donde el suelo es ligeramente ácido fué evidente el efecto tampón ejercido por el agregado de calcáreo a los "pellets" ya que cuando se incorporó *Glomus mosseae*, que generalmente funciona bien a pH neutro, fué el tratamiento que se destacó por sus efectos sobre la producción de materia seca y el contenido de nutrientes en el forraje.

Cuando se incorporó solamente *Rhizobium* se obtuvieron también efectos significativos que se potenciaron en la cuarta cosecha. Esto podría indicar la presencia de micorrizas nativas eficientes que pudieron estimularse por la inoculación con el *Rhizobium*.

En este suelo es necesario un estudio probando diferentes combinaciones HMAV - Rhizobium para poder recomendar una inoculación dual.

#### C . ENSAYOS DE SUSTRATOS PARA LA PREPARACION DE INOCULANTES.

En 1959 Mosse publica por primera vez el uso de "pot culture" para obtener esporas de un solo tipo de HMAV. Actualmente es amplia la gama de hospedantes y de especies fúngicas que pueden ser cultivadas y reproducidas (Struble y Skipper, 1988). La producción de nuevos medios donde cultivar las plantas micorrizables es motivo de estudio en esta última década, en especial porque con los conocimientos logrados no se ha podido hacer crecer el hongo "in vitro" y además porque si bien las micorrizas están distribuidas en todos los suelos, se ha demostrado la necesidad de aplicar inóculo para introducir endofitos más eficientes (Powell, 1984). Así es como el uso de los más diversos materiales está en estudio como medio de crecimiento para multiplicación en masa de HMAV (Sreenivasa y Bagyaraj, 1988; Baltruschat, 1987).

En la presente experiencia donde se han seleccionado medios de crecimiento y combinaciones hongo-planta hospedante, se ha demostrado que el uso de arcilla expandida, tal como discute Dehne (1987) permitió cultivar las plantas en un sistema fácil de esterilizar antes de la siembra e inoculación, que es capaz de promover una mayor esporulación de algunas especies fúngicas y que



## CONCLUSIONES

luego del crecimiento de las planta las raíces de estas pueden ser extraídas de las partículas para lavar la arcilla obteniendo así un inóculo con menos probabilidades de contaminación con parásitos de las raíces.

Sin embargo, no todas las combinaciones planta-HMAV son estimuladas por igual y, desde luego que la originalidad de los resultados expuestos en este apartado son, fundamentalmente los relativos a especies vegetales y fúngicas que mejor responden a los medios usados.

## VI. CONCLUSIONES

Los datos experimentales obtenidos en los diferentes ensayos e investigaciones que configuran el presente estudio, una vez contrastados y discutidos con referencias de la literatura científica relacionada con el tema, permiten extraer las siguientes conclusiones:

1ra. Los cultivares de soja estudiados (Bragg, Hardee y Hood) son susceptibles de formar micorrizas arbúsculo-vesiculares tanto en condiciones naturales como en controladas, si bien difieren en el grado de susceptibilidad, siendo el Hood el más micotrófico.

2da. Las características físico - químicas de los suelos afectan la respuesta a la micorrización de los cultivares de soja estudiados.

3ra. *Glomus epigaeum* mostró un grado de "compatibilidad funcional" con la soja superior al de los demás hongos

micorrizógenos ensayados.

4ta. Se puso de manifiesto una cooperación entre dosis moderadas de fosfato y micorrización para el desarrollo óptimo de la soja.

5ta. La inoculación de soja en el campo con *Bradyrhizobium japonicum* y de alfalfa con *Rhizobium meliloti* estimuló la formación de micorrizas en dichas plantas por hongos arbúsculo-vesiculares nativos. Se propone el parámetro "efecto sobre la micorrización" como criterio de selección de cepas de *Rhizobium*.

6ta. La micorrización de plantas de soja debe iniciarse con la emergencia de las raíces, en tanto que la inoculación con *Bradyrhizobium* es, en términos generales, más efectiva si se practica a los 15 días de la siembra que simultáneamente a ésta.

7ma. La micorrización, en relación positiva con el grado de "compatibilidad funcional" del sistema hongo AV-cultivar, estimula la nodulación; independientemente del tiempo de inoculación, confirmándose una ausencia de competencia entre los microsimbiontes por sitios de colonización de la raíz .

8va. *Rhizobium meliloti* estimula "in vitro" el desarrollo del micelio de los hongos micorrizógenos lo cual demuestra una interacción positiva entre los microsimbiontes de la alfalfa no mediada por la planta.

9na. Se ha ensayado en campo una forma de inoculante de micorrizas, que incluía *Rhizobium* y semillas de alfalfa. Este inoculante se ha mostrado eficaz para el establecimiento de los microsimbiontes; estos compitieron con éxito con los microorganismos nativos y fue muy eficiente en la estimulación del crecimiento y nutrición de las plantas en condiciones naturales.

10ma. Aunque se encontró una variedad de respuestas en la búsqueda de nuevos sustratos para obtener crecimiento y esporulación masiva de hongos micorrizógenos, se puede concluir que el maíz y la arcilla expandida pueden recomendarse como planta y sustrato de elección para los hongos ensayados (*Glomus mosseae*, *G. fasciculatum* y *G. epigaeum*).

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA.

- ABBOTT, L.K. Y ROBSON, A.D. (1984). En: "VA Mycorrhizae".  
(Ed. C.Ll. Powell y D.J. Bagyaraj). p.p. 113-130.  
CRC Press, Boca Raton, Florida.
- AFZA, R. ; HARDARSON, G. ; ZAPATA, F. Y DANSO, S.K.A.  
(1987). Plant and Soil. 97: 361-368.
- ALLEN, M.F. ; MOORE, T.S. Y CHRISTENSEN, M. (1980). Can.  
J. Bot. 58: 371-374.
- ALLEN, M.F. ; MOORE, T.S. Y CHRISTENSEN, M. (1982). Can. J.  
Bot. 60: 468-471.
- AMES, R.N. Y BETHLENFALVAY, G.J. (1987). New Phytol. 106:  
207-215.
- AMES, R.N. ; REID, C.P.P. E INGHAM, E.R. (1984). New  
Phytol. 96: 555-563.
- ANTUNES, V. Y CARDOSO, E.J.B.N. (1987) Programas e Resumos  
II Reuniao Brasileira sobre micorrizas- Sao Paulo-  
Brasil. pp.34.
- ARINES, J. ; VILARIÑO, A Y SAINZ, M. (1988) Plant and  
Soil (en prensa).
- ASAI, T. (1944) Can. J. Bot. 13: 463-485.
- ASIMI, S.; GIANINAZZI-PEARSON, V. , Y GIANINAZZI, S.  
(1980) Can. J. Bot. 58: 2200-2205.
- AZCON (1987). Soil Biol. Biochem. 19: 417-419
- AZCON, R., MARIN, A.D. Y BAREA, J.M. (1978) Plant and  
Soil. 49: 561-567.

- AZCON R.; EL-ATRACH, F. Y BAREA, J. M. (1988). Biol. Fert. Soils. 6: 1-4.
- AZCON R.; AZCON-AGUILAR, C. Y BAREA, J. M. (1978) New Phytol. 80: 359-364.
- AZCON-AGUILAR, C. Y BAREA, J. M. (1978). Can. J. Microbiol. 24: 520-524.
- AZCON-AGUILAR, C., y BAREA, J. M. (1980). Investigación y Ciencia. 47: 8-16.
- AZCON-AGUILAR Y BAREA, J. M. (1985). Trans. Br. Mycol. Soc. 84: 536-537.
- AZCON-AGUILAR, C. , BAREA, J. M. Y OLIVARES, J.(1980). Abstract Nº 18.7, 2nd. Int. Symp. Microbial Ecology, University of Warwick, Coventry, Inglaterra
- AZCON-AGUILAR, C. BAREA, J. M. Y OLIVARES, J.(1982). En: Les Colloques de l'INRA, nº 13. Les Mycorrhizes: biologie et utilisation. (Ed. S. Gianinazzi, V. Gianinazzi-Pearson y A. Touvelot) p.p. 195-206 INRA, Paris.
- AZCON-AGUILAR, C., BAREA, J. M. Y ROLDAN-FAJARDO, B. (1984) Anal. Edaf. Agrobiol. 43: 975-998.
- AZCON-AGUILAR, C. , DIAZ-RODRIGUEZ, R. M. Y BAREA, J. M. (1986 a). Trans. Br. Mycol. Soc. 86: 337-340.
- AZCON-AGUILAR, C., GIANINAZZI-PEARSON, V. FARDEAU, J. C. y GIANINAZZI, S. (1986 b). Plant and Soil. 96: 3-15
- BADR EL-DIN, S.M.S. Y MOAWAD, H. (1988) Plant and Soil. 108: 117-124.
- BAGYARAJ, D. J., MANJUNATH, A Y PATIL, P.B. (1979). New Phytol. 82: 141-145.
- BALTRUSCHAT, H. (1987). J. Plant Dis. and Protec. 94: 419-430.
- BAREA, J. M. (1986). En: "Physiological and Genetical



- Aspects of Micorrhizae. (Ed. V. Gianinazzi-Pearson y S. Gianinazzi) Paris, INRA. p.p.177-187.
- BAREA, J. M. Y AZCON-AGUILAR, C. (1982 a). Anal. Edafol. Agrobiol. 41: 1517-1532.
- BAREA, J. M. Y AZCON-AGUILAR, C. (1982 b). Trans. Int. Col. Mycorrhizes. Biology and Perspectives d'utilization. Dijón.
- BAREA, J. M. Y AZCON-AGUILAR, C. (1982 c) Appl. Envirom. Microbiol. 43: 810-813.
- BAREA, J. M. Y AZCON-AGUILAR. (1983). En: "Advances in Agronomy" (Ed. N. C. Brady) Academic Press New York. 36: 1-54
- BAREA, J.M. Y GONZALEZ, S. B. (1987). En: Transactions of the XIII Congress of International Soc. of Soil Sci, Hamburgo, 1986. p.p. 808-816.
- BAREA J. M., AZCON, R. y AZCON-AGUILAR, C. (1983) 3rd. International Congress on Phosphorus Compounds, Brussels, p.p. 127-144.
- BAREA, J.M., AZCON-AGUILAR C. Y AZCON, R. (1987). New Phytol. 106: 717-725.
- BAREA, J.M., AZCON-AGUILAR C. Y AZCON, R. (1988). En: "Nitrogen fixation by legumes in Mediterranean Agriculture". (Eds. D. P. Beck y L.A. Materon) p.p. 153-162. ICARDA y Martinus Nijhoff.
- BAYNE, H.G. , BROWN, M.S. Y BETHLENFALVAY, G.J. (1984). Plysol. Plant. 62: 576-580.
- BECK, D.P. Y MATERON, L.A. (1988). En: "Nitrogen Fixation by legumes in Mediterranean Agriculture". (Eds. D. P. Beck y L.A. Materon) ICARDA y Martinus Nijhoff. La Haya.
- BETHELENFALVAY, G. I. , DAKESSIAN, S. Y PACOVSKY, R.S.

- (1984). *Can. J. Bot.* 62: 519-524.
- BETHELENFALVAY, G.J., PACOVSKY, R. S. , BAYNE, H.G. Y  
STAFFORD, A.E. (1982) *Plant Physiol.* 70: 446-450.
- BETHELENFALVAY, G.J; BAYNE, H.G. Y PACOVSKY, R.S. (1983).  
*Physiol Plant.* 57: 543-548.
- BETHELENFALVAY, G. J., BROWN, M.S. Y STAFFORD, A.E.  
(1985). *Plant Physiol.* 74: 1054-1058.
- BETHELENFALVAY, G. J. Y PACOVSKY, R.S. (1983). 73: 969  
-972.
- BONFANTE-FASOLO, P. (1984). En: "VA Micorrhiza" (Ed. C.  
Ll. Powell y D. J. Bagyraj) 5-33 CRC Press, Boca  
Raton Florida, 4. 234 pp.
- BOFANTE-FASOLO, P. (1988). En: *Cell to Cell Signals in  
Plant, Animal and Microbial Symbiosis* (Ed. S.  
Scannerini, D. C. Smith, P. Bofante-Fasolo, V.  
Gianinazzi-Pearson) p.p. 219-235. Springer-Verlag,  
Berlin & Heidelberg.
- BOWEN, G. D. (1978). En: "Plant Disease", Vol III Ed. J.  
G. Horsfall y E. B. Cowling Academic Press, New  
York. p.p. 321-256.
- BOWEN, G. D. (1980) En "Contemporary Microbial Ecology",  
(Ed. D. C. Ellwood, J. N. Hedger, M. J. Latham J. H.  
Slater y J. M. Lynch). Academic Press, New York.  
p.p. 283-304.
- BOX, G. E. P. Y COX, D.R. (1964). *J. Roy. Statist. Soc.*,  
B. 26: 211-243.
- BROWN, M. S. Y BETHLENFALVAY, G. J. (1986). *J. Plant  
Nutrit.* 9: 119-1212.
- BROWN, M. S. Y BETHLENFALVAY, G. J. (1987). *Plant Physiol.*  
85: 120-123.
- BROWN, M. S., THAMSURAKUL, S. Y BETHELENFALVAY, G.J.

- (1988). *Physiol. Plantarum*. (En prensa).
- CARDOSO, E. J. B. N. (1986). *R. bars. Ci Solo.* 10: 17-23.
- CARPENTER, A. T. Y ALLEN, M.F. (1988). *New Phytol.* 109: 125-132.
- CASSMAN, K. G. , MUNNS, D. N. U y BECK, D. P. (1981). *Soil Sci. Soc. Am. J.* 45: 517-520.
- CLUETT, H. C. Y BOUCHER, D.H. (1983). *Oecología (Berlin)*. 59: 405-408.
- COOPER, K. M. (1975). En: "Endomycorrhizas" (Ed. F.E. Sanders, B. Mosse y P. B. Tinker) Academic Press, London. p.p. 391-407.
- COOPER, K. M. (1984). En: "VA- Mycorrhizae", (Ed. C.Ll. Powell y D. J. Bagyaraj) CRC Press, Boca Raton, Florida. p.p. 155-185.
- CURL Y TRUELOVE (1986). *Advances Series in Agricultural Sciences.* 15 (Ed. D. F. R. Bommer, B. R. Sabey, G. W. Thomas, y Vaadia y L. D. Van Vleck) p.p. 288 Springer-Verlag, Berlin.
- DAFT, M. J. Y EL-GHIAMI, A.A. (1974). *New Phytol.* 73: 1139-1147.
- DANIELS, B.A. Y GRAHAM, S.O. (1976). *Mycología.* 68: 108-116.
- DANIELS, B. Y TRAPPE, J. M. (1980). *Mycología.* 72: 457-471.
- DANSO, S. K. A. (1988). En: "Nitrogen Fixation by Legumes in Mediterranean Agriculture" (Eds. D. P. Beck y L. Materon). ICARDA y Martinus Nijhoff. p.p. 345-358.
- DEHNE, H. W. (1987). En: *Transactions of the XIII Congress of International Soc. of Soil Sci. Hamburg, 1986.* pp. 817-825.
- DEHNE, H. W. (1988). En : *Abstracts of 2nd. European*

- Symposium on Mycorrhizae, Praga, Checoslovaquia  
1988. pp. 26.
- DE LA CRUZ, R.E., MANALO, M.Q. AGGANGAN, N.S. Y TAMBALO,  
J.D. (1988). Plant and Soil. 108: 111-115.
- DRAPER, N.R. Y SMITH, H. (1981). Applied Regression  
Analysis (2nd. ed.) New York: Wiley. p.p. 220
- FEHR, W.R. , CAVINESS, C. E. , BURWOOD, D. T. Y  
PENNINGTON, J.S. (1971). Crop Science. 11: 929-931.
- FERNANDES, A. B. ; SIQUEIRA, J. O. , MENEZES, M. A. L. y  
GUEDES, G.A.A. (1987) R. bras. Ci. Solo. 11:  
101-108.
- FRANCIS, R. FINLEY, R. D. Y READ, D. J. (1986). New  
Phytol. 102: 102-111.
- FOSTER Y BOWEN. (1982). Phytopathogenic Prokariotes.  
Academic Press. Inc. p.p. 159-185.
- GANRY, F. , DIEM, H. G. Y DOMMER GUES, Y. R. (1982). Plant  
and Soil. 68: 321-129.
- GERDEMANN, J.W. (1968). Annu. Rev. Phytopathol. 6: 397  
-418.
- GENDERMANN, J. M. Y NICHOLSON, T. H. (1963). Trans. Br.  
mycol. Soc. 46: 235-244.
- GIANINAZZI-PEARSON, V. (1983). En: Genes Involved in  
Microbe-Plant Interactions (Ed. D. P. S. Verma, T.  
Hohn) p.p. 225-253, Springer Verlag. Viena.
- GIANINAZZI-PEARSON, V. Y GIANINAZZI, S. (1986). En:  
Physiological and Genetical. Aspects of Micorrhizae  
(Ed: V. Gianinazzi-Pearson y S. Gianinazzi). p.p.  
101-109 Paris INRA.
- GIOVANNETTI, M. Y MOSSE, B. (1980). New Phytol. 84:  
489-500.
- GONZALEZ, S. (1980). Actas IXa. Reunión Argentina Ciencia

- del Suelo; Paraná E. Ríos. p.p. 341-346.
- GREEN, N. E. , GRAHAM, S. O. Y SCHENCK, N. C. (1976).  
Mycologia. 68: 929-934.
- GUEYE, M. , DIEM H. G. Y DOMMERGUES, Y. R. (1987) MIRCEN  
Journal. 3: 75-86.
- GUNASEKARAN, P. , SUNDARESAN, P. , UBBALTHOOSE RAJA, N. Y  
LAKSHMANAN, M. (1987). Proc. Indian Acad. Sci. (Plant  
Sci). 97: 231-234.
- HARLEY, J. L. Y SMITH, S. E. (1983). Mycorrhizal Symbiosis  
Academic Press, London. pp. 483.
- HARRIS, D. , PACOVSKY, R. S. Y PAUL, E. A. (1985). New  
Phytol. 101: 427-440.
- HAYMAN, D. S. (1982). En: "Advances in Agricultural  
Microbiology" ed. N. S. Subba Rao, p.p. 325-373. New  
Delhi: Oxford y I B H Publishing Co.
- HAYMAN, D. S. (1983). Can J. Bot. 61: 944-963.
- HAYMAN, D. (1984). En: "Forage Legumes". British Grassland  
Society Occasional Symposium 16. (Ed. D J T).  
Lompson Hurley: BGS. pp. 44-47.
- HAYMAN, D. S. (1986). MIRCEN Journal. 2: 121-145.
- HAYMAN, D.S. , DAY, J. M. Y DYE, M. (1986) En:  
"Physiological and Genetical Aspects of  
Mycorrhizae". (Ed. V. Gianinazzi-Pearson,  
S.Gianinazzi) pp. 467-473. INRA , Paris.
- HAYNES, R. J. (1980). "En Advances in Agronomy". 33: 227  
-261. (Ed. N. C. Brady) Academic Press New York.
- HEAP Y NEWMAN. (1980). (1980). New Phytologist. 85: 173  
-179.
- HEICHEL, G. H. (1987). En: "Energy in Plant Nutrition and  
Pest Control" (Ed. R. Helsen) pp. 63-80. Elsevier  
Science Publishers B. V. Amsterdam.

- HEPPER, C. (1979). *Soil Biol. Biochem.* 11: 269-277.
- HEPPER, C. Y SMITH, S. (1976). *Trans Br. Mycol. Soc.* 66: 189-193.
- HEROLD. (1980). *New Phytol.* 86: 131-144.
- HEWITT, E. J. (1952). *Tech. Commun. Vol.22. Farham roy. Bucks. Common. Agric. Bur.*
- HILTNER, R. (1904). *Arb. Deut. Landw. Ges.* 98: 59-78.
- IKRAM, A., MAHMUD, A. W., Y NAPI, D. (1987). *Plant and Soil.* 104: 195-207.
- JACOBSEN, I. (1987). *Plant and Soil.* 98: 407-415.
- JANSE, J. M. (1896). *An. Jard. Bot. Buitenz.* 14: 53-212.
- KAWAI, Y. y YAMAMOTO, Y. (1986). *Plant Cell Physiol.* 27: 399-405.
- KOCH Y JOHNSON. (1984). *Plant Physiol.* 75: 26-30.
- KKRISHNA, K. R. Y BAGYARAJ, D. B. (1984). *Plant and Soil.* 77: 405-408.
- KUCEY, R. M. N. Y BONETTI, R. (1988). *Can. J. Soil Sci.* 68: 143-149.
- KUCEY, R. M. N. Y JANSEN, H. H. (1987). *Plant and Soil.* 104: 71-78.
- KUCEY, R. M. N. Y PAUL, E. A. (1982). *Soil Biol. Biochem.* 14: 407-412.
- LAWN, R. J. Y BRUN, W. A. (1974). *Crop. Sci.* 14: 11-16.
- LIOI Y GIOVANETTI. (1987). *Plant and Soil.* 103: 213-219.
- LOPEZ-AGUILLON, R. Y MOSSE, B. (1987). *Plant and Soil.* 79: 155-170.
- MALAJCZUK, N., LINDERMAN, R. G. , KOUGH, J. Y TRAPPE, J. M. (1981). *New Phytol.* 87: 567-572.
- MALLOCH, D. W.; PIROZYNSKI, K. D. Y RAVEN P. M. (1980). *Proc. Natl Acad. Sci. U. S. A.* 77: 2113-2118.

- MENGE, J. A. (1984). En: "VA Mycorrhizae" (ed. C. Ll. Powell y V. Bagyaraj). p.p. 187-204. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- MEYER, J. R. Y LINDREMAN, R. G. (1986). Soil Biol. Biochem. 18: 191-196.
- MILLER, R. H.; CARDOSO, E. J. B. N. Y CARDOSO, C. O. N. (1979). Summa Phytopath. , Piracicaba. 5: 168-172.
- MOSSE, B. (1959). Trans. Br. Mycol. Soc. 42: 272-286.
- MOSSE, B. (1972). Rev. Ecol. Biol. Sol. , Paris. 9: 529-537.
- MOSSE, B. (1986 a). Biological Agriculture and Horticulture. 3: 191-209.
- MOSSE, B. (1986 b). En: "Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae". (Ed. V. Gianinazzi -Pearson y, S. Gianinazzi). p.p. 615-620. Paris INRA.
- MOSSE, B. Y HEPPER, C. M. (1975). Physiol. Plant. Pathol. 5: 215-223.
- MOSSE, B. Y THOMSON. (1984). Can J. Bot. 62: 1523-1530.
- MOSSE, B., POWELL, C. L. Y HAYMAN, D. S. (1976). New Phytol. 76: 331-342.
- MOSSE, B. , STRIBLY, D. P. Y LE TACON, F. (1981). Adv. Microb. Ecol. 5: 137-218.
- MUNNS, D. N. Y MOSSE, B. (1980). En: "Advances in Legume Science". (Ed. R. J. Summerfield and A.H. Bunting). p.p. 115-125. Royal Botanic Gardens, Kew, England.
- NEWMAN, S. E. (1985). Ph. D. Diss. Texas A M Univ., College Station.
- NIELSEN, J. D. Y JENSEN, A. (1983). Plant and Soil. 70: 165-172.
- OFORI, F. Y STERN, W. R. (1987). En "Advances in

- Agronomy". (Ed. N. C. Brady) 41: 41-48. New York Academic Press.
- O'HARA, G. W., BOONKERD, N. Y DILWORTH, M. J. (1988).  
Plant and Soil. 108: 93-110.
- OLIVARES, J., MONTOYA, E. Y PALOMARES, A. (1977).  
En: "Recent Developments in Nitrogen Fixation". (Eds. W. Newton, J. R. Postgate and C. Rodríguez-Barrueco) Academic Press, p.p. 375-386. New York and London.
- OLSEN, S. R., COLE, C.U., WATANABE, F.S. Y DEAN, L.A. (1954). Cir. U.S. Dep. Agr.:939.
- PACOVSKY, R. S. (1986). Plant and Soil. 95: 379-388.
- PACOVSKY, R. S. (1988). *Physiol. Plant* (En Prensa).
- PACOVSKY, R. S. Y FULLER, G. (1986). Plant and Soil. 95: 361-377.
- PACOVSKY, R. S., PAUL, E. A. Y BETHLENFALVAY, G. J. (1986). *Crop Sci.* 26: 145-150.
- PANG, P. C. Y PAUL, E. A. (1980). *Can. J. Soil Sci.* 60: 241-250.
- PAPASTYLIANOU, I. (1988). En "Nitrogen Fixation by Legumes in Mediterranean Agriculture". (Ed. D. P. Beck y L. A. Materon) p.p. 55-63 ICARDA y Martinus Nijhoff
- PEÑA, I. I., SANCHEZ-DIAZ, M., AGUIRREOLEA J. Y BECANA, M. (1988). *J. Plant Physiol.* 133: 79-83.
- PFEIFFER, C. M. Y BLOSS, H. E. (1988). *New Phytol.* 108: 315-321.
- PHILLIPS, J. M. Y HAYMAN, D. S. (1970). *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 55: 158-161.
- POCHON, J. Y TARDIEX, P. (1959). *Techniques d'analyse en Microbiologie du Sol* Ed. de la Tourelle. p.p. 111.
- POWELL, C. Ll . (1976). *Trans. Br. Mycol. Soc.* 66: 439-445.



- POWELL, C. Ll. (1980). *Soil Biol. Biochem.* 12: 247-250.
- POWELL, C. Ll. (1984). En "VA Mycorrhiza" (ed. C. Ll. Powell y D. Bagyaraj). p.p. 205-222. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- PRIESS, J. (1984). *Trends in Biochem. Sci.* 24: 24-26.
- PURCINO, A.A. C., CHAIBUNDIT LURLARP Y LYND, J. Q. (1986). *Commun. in Soil Sci. Plant Anal.* 17: 473-489.
- ROLDAN-FAJARDO, B. E. Y BAREA, J. M. (1987). *Anal. Edafol. y Agrobiol.* 46: 229-246.
- ROSKOSKI, J. P., PEPPER, I. Y PARDO, E. (1986). *Forest Ecol. Management.* 16: 57-68.
- SAIF, S. R. (1987). *Plant and Soil.* 97: 25-35.
- SAINZ, M. Y ARINES, J. (1988). *Biol. Fertil. Soils.* 6: 55-60.
- SAITO, S. M. T., MARTINS, E. C. S., FREITAS, J. R. DE Y ROSTON, A. J. (1983). *Pesq. agropec. bras., Rio de Janeiro.* 18: 855-861.
- SALINAS J. G. ; SANZ, J. I. y SIEVERDING, E. (1985). *Plant and Soil.* 84: 347-360.
- SAME. B. I. ; ROBSON, A. D. Y ABBOTT, L. K. (1983). *Soil Biol Biochem.* 15: 593-597.
- SANDERS, F. E. Y SHEIKH, N. A. (1983). *Plant and Soil* 71: 223-246.
- SCHELTEMA, M. A., ABBOTT, L. K., ROBSON, A. D. Y DEATH, G. (1985). *New Phytol.* 100: 105-114.
- SCREENIVASA Y BAGYARAJ. (1988). *Plant and Soil.* 109: 125-127.
- SIEVERDING, E. Y LEIHNER, D. E. (1984). *Plant and Soil.* 80: 143-146.
- SINCLAIR, T. R. Y WIT, C. T. de. (1976). *Science.* 189: 565-567.

- SIQUEIRA, J. O. (1987). Programa e Resumos da II Reuniao Brasileira sobre micorrizas, p.p. 44-70 Sao Paulo, Brasil.
- SIQUEIRA, J. O. Y PAULA, M. A. (1986). R. bras. Ci. Solo, Campinas. 10: 97-102.
- SIQUEIRA, J. O., SYLVIA, D. M., GIBSON, J. Y HUBBELL, D. H. (1985). Can. J. Microbiol. 31: 965-972.
- SKUJINS, J. (1984). Adv. Microb. Ecol. 7: 49-91.
- SMITH, S. S. E. (1980). Biol. Rev. Camb. Philios. Soc. 55: 475-510.
- SMITH, S. E. Y BOWEN, G. D. (1979). Soil Biol. Biochem. 11: 469-473.
- SMITH, S. E. Y DAFT, M. J. (1977). Austral. J. Plant Physiol. 4: 403-413.
- SMITH, S. E. Y GIANINAZZI-PEARSON, V. (1988). Ann. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol. 39: 221-244.
- SMITH, S. E., NICHOLAS, D. J. D. Y SMITH, F. A. (1979). Austr. J. of Plant Physiol. 6: 305-316.
- STEEL, R. G. D. Y TORRIE, J. H. (1980). Principles and Procedures of Statistics. A. Biometrical Approach. 2nd. ed. Mc Graw-Hill Boock Company.
- STRIBLEY, D. P., TINKER, P. B. Y RAINER, J. H. (1980). New Phytol. 86: 261-266.
- STRUBBLE Y SKIPPER. (1988). Plant and Soil. 109: 277-280.
- SUBBA RAO, N. S., TILAK, K. V. B. R. Y SINGH, C. S. (1986). Plant and Soil. 95: 351-359.
- SUMAN BALA Y SINGH. (1985). Plant and Soil. 87: 445-447.
- TINKER, P. B. (1975). Physiol. Veg. 16: 743-751.
- TINKER Y GILDON. (1983). En: "Metals and Micronutrients. Uptake and utilization by plants". (ed. D. A. Robb y W. S. Pierpoint). p.p. 21-32. Academic Press.

London-New York.

- TISDALL, J. M. Y OADES, J. M. (1979). Aust. J. Soil Res.  
17: 429-441.
- TOMMERUP, I. C. Y ABBOTT, L. K. (1981). Soil Biol.  
Biochem. 13: 431-433.
- TRAPPE, J. (1981). En "Advances in food producing systems  
for arid and semiarid Land" (Ed. J. T. Manassah y E.  
J. Brishey). p.p. 581-599. Academic Press. New York
- WALKER, C. (1987). Programa e Resumos da II Reuniao  
Brasileira sobre micorrizas. p.p. 83-97. Sao Paulo,  
Brasil.
- WARNER, A. Y MOSSE, B. (1982). New Phytol. 90: 529-536.
- WEAVER, R. W. (1988). En "Nitrogen Fixation by legumes in  
Mediterranean Agriculture" (Ed. Beck y Materon).  
p.p. 359-365. ICARDA y Martinus Nijhoff. La Haya
- YAMADA, Y. Y IKEDA, M. (1987). J. Fac. Agr. Kyushu Univ.  
31: 365-372.
- ZAPATA, F., DANSO, S. K. A., HARDASON, G. Y FRIED, M.  
(1987). Agron. J. 79: 172-179.



01051736