

SELECCION DE PLANTAS HOSPEDERAS Y EFECTO DEL FOSFORO PARA LA PRODUCCION DE INOCULO DE HONGOS FORMADORES DE MICORRIZAS ARBUSCULARES POR EL METODO DE CULTIVO EN MACETAS¹

Eduardo Salas^{2/*}, Fabio Blanco*

Palabras clave: micorrizas arbusculares, fósforo, inóculo de hongos, plantas hospederas.

RESUMEN

Con el fin de seleccionar hospederos apropiados para producir inóculo de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA), bajo el método de cultivo en macetas, fueron evaluadas 5 especies hospederas: chile dulce (*Capsicum annum*), gandul (*Cajanus cajan*), maíz (*Zea mays*), pepino (*Cucumis sativus*), y puerro (*Allium porrum*). Los tratamientos aplicados a cada especie de planta consistieron en la combinación de 2 factores: a) inoculación con la cepa C-1-1 de *Glomus manihotis* (Gm) o C-1-2 de *Scutellospora pellucida* (Sp), y un testigo (no inoculación); b) fertilización fosfórica: 0 y 200 kg de P₂O₅/ha. Cada combinación de tratamientos se asignó en forma completamente aleatoria a 3 macetas con 3 L de un Andisol esterilizado (15 µg/ml de P). Todas las macetas recibieron 150 kg/ha de N, 100 kg/ha de K y 10 kg/ha de Mg. Se midió el porcentaje de colonización por HMA en las raíces a los 45, 82 y 120 días después de la siembra. Se cuantificó el número de esporas por 100 g de suelo seco 1 mes después de podarse las plantas a ras del suelo. Los resultados a los 45 días indicaron que Gm había alcanzado entre 80-100% de colonización en los 4 hospederos evaluados, mientras Sp colonizó entre 1-80%. Las siguientes mediciones para Gm evidenciaron una leve disminución de la colonización del chile dulce y del maíz cuando se fertilizó con fósforo, en tanto que para Sp significó un aumento por encima del 70%. Con el maíz se

ABSTRACT

Selection of host plants and effect of phosphorus in production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi by the pot planting method. In order to select appropriate hosts for producing vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi (VAMF) through the pot-planting procedure, 5 host species were evaluated: sweet pepper (*Capsicum annum*), pigeon pea (*Cajanus cajan*), corn (*Zea mays*), cucumber (*Cucumis sativus*) and leek (*Allium porrum*). Treatments in each host consisted of combinations of two factors: a) inoculation with strains C-1-1 of *Glomus manihotis* (Gm), or C-1-2 of *Scutellospora pellucida* (Sp), or non-inoculated check; b) phosphorus fertilization: 0 or 200 kg P₂O₅/ha. Each treatment combination was assigned at random to 3 pots with 3 L of a sterilized Andisol (15 mg P/L). All pots received 150 kg N, 100 kg K and 10 kg Mg/ha. Percent colonization by VAMF in roots was measured at 45, 82 and 120 days after planting. The number of spores/100 g of dry soil was quantified 1 month after plants were cut at soil level. After 45 days, Gm reached 80-100% colonization in 4 of the hosts tested, while Sp colonized 1-80%. Subsequent measurements indicated a slight decrease in pepper and corn colonization by Gm with P fertilization, whereas this brought an increase over 70% by Sp. The greatest spore yield per 100 g of soil (13550, average

1/ Recibido para publicación el 18 de febrero de 1999.
2/ Autor para correspondencia.
* Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional, Apartado postal 86-3000. Heredia, Costa Rica. El

primer autor es beneficiario del Programa Financiero de Apoyo a Investigadores Científicos del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) de Costa Rica.

produjo la mayor cantidad de esporas por 100 g de suelo (13550), promedio de las 2 especies de hongos y los 2 niveles de P, seguido de chile, pepino y gandul con 7870, 7120 y 5580 respectivamente y el puerro presentó la menor cantidad (1850) ($P < 0.05$). La cantidad de esporas de Gm disminuyó con el P en pepino y no se afectó en los demás hospederos. El P incrementó las esporas de Sp en chile dulce y pepino, en gandul y maíz no hubo efecto y en puerro afectó negativamente ($P < 0.05$).

INTRODUCCION

Los hongos del orden *Glomales* forman una asociación simbiótica mutualista con la mayoría de las plantas vasculares. Estos hongos colonizan la raíz y dividen su micelio dicotómicamente dentro de las células corticales formando arbusculos. El desarrollo de ambas estructuras (hongo-raíz) se conoce como micorrizas arbusculares (MA) (Blanco y Salas 1997).

Las plantas obtienen diversos beneficios por la MA; esto ha motivado al estudio de las mismas con el fin de obtener un mejor aprovechamiento, especialmente porque es consecuente con las estrategias de desarrollo sostenible. Sánchez y Salinas (1981) sugirieron entre otras medidas, la utilización práctica de las micorrizas para solventar los problemas de la poca disponibilidad de fósforo en buena parte de los suelos del trópico.

Janos (1988) confirmó lo anterior y agregó que es necesario reconocer los sitios donde la inoculación con MA es beneficiosa (sitios donde el potencial de inóculo es bajo o donde los hongos son inefectivos), y producir y utilizar inóculo de los hongos más efectivos.

Como los hongos MA son simbioses obligados, el inóculo tiene que producirse multiplicando el hongo aislado en raíces de plantas hospedantes susceptibles, cultivadas en sustratos o suelos esterilizados (Saif 1984). Las plantas y

of the two fungus species and 2 levels of P) was produced with corn, followed by pepper, cucumber and pigeon pea with 7870, 7120 and 5580, respectively; leek showed the smallest yield (1850) ($P < 0.05$). The number of Gm spores decreased with P in cucumber, and was not affected in other hosts. P increased Sp spores in pepper and cucumber; there was no effect on corn or pigeon pea, and the effect was negative on leek ($P < 0.05$).

sustratos apropiados no deben ser restrictivos a las especies de hongos MA.

El cultivo en macetas para obtener inóculo de MA es un método confiable, en el cual se coloca una pequeña cantidad de fragmentos de raíces o esporas tamizadas del suelo, en una maceta con un sustrato estéril y se siembra una planta hospedera. Después de 3 a 6 meses, bajo las condiciones apropiadas, el hongo habrá colonizado las raíces y producido nuevas esporas. La maceta entera contendrá, además del sustrato, raíces infectadas, fragmentos de hifas y esporas (Lindermann 1988).

Los siguientes puntos son de interés en la elección de la planta hospedera: debe ser micótrofa obligada y no selectiva a las diferentes especies de hongos MA; adaptarse a un rango amplio de condiciones de suelo y clima; rústica para su mantenimiento; que no requiera mucho espacio en el invernadero o en condiciones de laboratorio; puede ser perenne y aceptar podas periódicas si se desea mantener cultivos por mucho tiempo en macetas; con semillas de alto porcentaje de germinación, sin necesidad de escarificaciones complicadas; no debe tener enfermedades radicales en común con los cultivos en los cuales se utilizará el inóculo (Sieverding 1984a).

El objetivo del presente estudio fue evaluar 5 especies de plantas hospederas promisorias y 2 niveles de fertilización fosfórica para la multiplicación de 2 especies de hongos MA en macetas.

MATERIALES Y METODOS

El trabajo se llevó a cabo en un invernadero de la Universidad Nacional, en Heredia, Costa Rica.

Cinco especies de plantas hospederas fueron no inoculadas o inoculadas con la cepa C-1-1 de *Glomus manihotis* (Howeler, Sieverding y Schenck) o C-1-2 de *Scutellospora pellucida* (Nicol. & Schenck) Walker y Sanders (cepas donadas por el Dr. Ewald Sieverding). Cada combinación planta-hongo se evaluó en 2 niveles de fertilización fosfórica: 0 y 200 kg de P_2O_5 /ha, aplicado al momento de la siembra.

Las especies hospederas fueron chile dulce (*Capsicum annum*), gandul (*Cajanus cajans*), maíz (*Zea mays*), pepino (*Cucumis sativus*), y puerro (*Allium porrum*). El inóculo consistió de suelo con esporas, micelio y raíces infectadas, aplicando aproximadamente 10 g de inóculo por maceta. La siembra de las plantas se efectuó depositando las semillas sobre el inóculo, el cual se localizó en el fondo de hoyos de 4 cm de profundidad, en macetas de polietileno negro, con 3 L de un suelo Andisol, autoclavado a 130°C y 15 lbs de presión por 45 min. Después de la germinación se dejaron 3 plantas por maceta de chile dulce, pepino y puerro, 2 de gandul y 1 de maíz, con el fin de compensar las diferencias de los sistemas radicales entre especies y que cubrieran el mayor volumen de suelo en la maceta. Entre mayor sea la densidad de plantas, mayor será también la densidad de raíces en el volumen de suelo ocupado por las plantas (Koide 1991). Cada combinación de tratamientos se asignó en forma completamente aleatoria a 3 macetas. El análisis químico del suelo esterilizado se presenta en el Cuadro 1.

En todas las macetas se fertilizó a los 30 días con el equivalente de 100 kg/ha de N (NH_4NO_3) y 100 kg/ha de K (KCl). A los 65

días se aplicó $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ a la dosis de 10 kg/ha de Mg y a los 74 días la mitad de la primera dosis de nitrógeno.

Se midió el porcentaje de colonización por los hongos MA en las raíces de las plantas, para lo cual se tomaron, con barreno, muestras de suelo con aproximadamente un gramo de raíces por maceta. Los muestreos se realizaron a los 45, 82 y 120 días de iniciado el ensayo. Debido a la poca cantidad de raíces que presentó el puerro en los primeros meses de crecimiento, fue evaluado a los 120 días. Por el contrario, en pepino no se efectuó el último muestreo pues las plantas habían entrado en senescencia.

Las estructuras de los hongos MA en las raíces fueron teñidas por el método de Phillips y Hayman (1970) con algunas modificaciones, tal como lo describe Sieverding (1983). Para el porcentaje de raíz colonizada se siguió la metodología de intersección en portaobjetos (Sieverding 1983).

Además, se calculó el número de esporas producidas por 100 g de suelo seco. Para estimular la esporulación, las plantas fueron cortadas a ras del suelo y un mes después se tomó, con un barreno, una muestra de 30 g/maceta, de la cual 10 g se emplearon para el conteo de esporas y otros 10 g fueron colocados en una estufa a 105°C/72 h para determinar la humedad. En el proceso de separación de esporas se empleó el principio del método de flotación en centrifuga en solución de sacarosa (Jenkins 1964) con modificaciones realizadas por Sieverding (1983).

Antes del ANDEVA, a los datos de la variable porcentaje de colonización de las raíces por hongos MA, se les practicó la transformación angular y a los de la variable número de esporas, la logarítmica. Se utilizó la prueba Waller-Duncan para comparar las especies de plantas hospederas.

Cuadro 1. Características químicas del suelo después de ser esterilizado en autoclave a 15 lb de presión y 130°C/45 min.

Materia orgánica	pH H ₂ O	Ca	Mg	K	Ac. Int.	P	Fe	Cu	Zn	Mn
%		meq/100 ml					ug/ml			
14.0	5.5	4.5	0.3	0.39	0.9	15	57	2	3	75

RESULTADOS

Porcentaje de colonización de las raíces por los hongos MA

Al observar las Figuras 1 y 2, se evidencia que *Glomus manihotis* fue más rápido que *Scutellospora pellucida* ($P=0.01$) en la colonización de las raíces. A los 45 días *G. manihotis* había alcanzado entre 80 y 100% de colonización en los 4 hospederos evaluados; en las 2 mediciones posteriores se observó una leve tendencia a disminuir la colonización del chile dulce y del maíz cuando se fertilizó con fósforo. *S. pellucida* a los 45 días colonizó entre 1 y 80% de la longitud de raíz; esta especie fúngica tuvo mayores dificultades para colonizar a chile dulce y maíz que a gandul y pepino (diferencias significativas entre especies de plantas, Razón $k=100$), pero conforme avanzó el tiempo (82 y 120 días), la tendencia fue a aumentar la colonización. Es necesario mencionar que no se realizó el muestreo de raíces de chile a los 82 días, con el tratamiento *S. pellucida* + 0 kg de P/ha debido al escaso desarrollo radical, lo cual no debe confundirse en la Figura 2 que se dio 0%

de colonización. Con respecto al efecto del fósforo aplicado, se observó a los 45 días, un efecto positivo sobre la colonización, excepto en pepino, pero al pasar el tiempo el efecto no fue notable.

Número de esporas producidas

El análisis estadístico de esta variable reveló que interactuaron entre sí ($P=0.05$), las especies de plantas, hongos y niveles de fertilización. Con maíz se obtuvo el mayor número de esporas ($P=0.05$) y las menores diferencias relativas entre las combinaciones hongo por fertilizante. El puerro presentó el menor número de esporas, mientras que chile, gandul y pepino se encontraron en posiciones intermedias (Figura 3).

Solo en pepino la producción de esporas de *G. manihotis* disminuyó con la fertilización fosfórica ($P=0.05$); en las demás especies de plantas no hubo efecto significativo.

En chile dulce y pepino el número de esporas de *S. pellucida* aumentó con la fertilización fosfórica ($P=0.05$). Sin embargo, en puerro el fósforo afectó negativamente, mientras en maíz y gandul no hubo efecto ($P>0.05$).

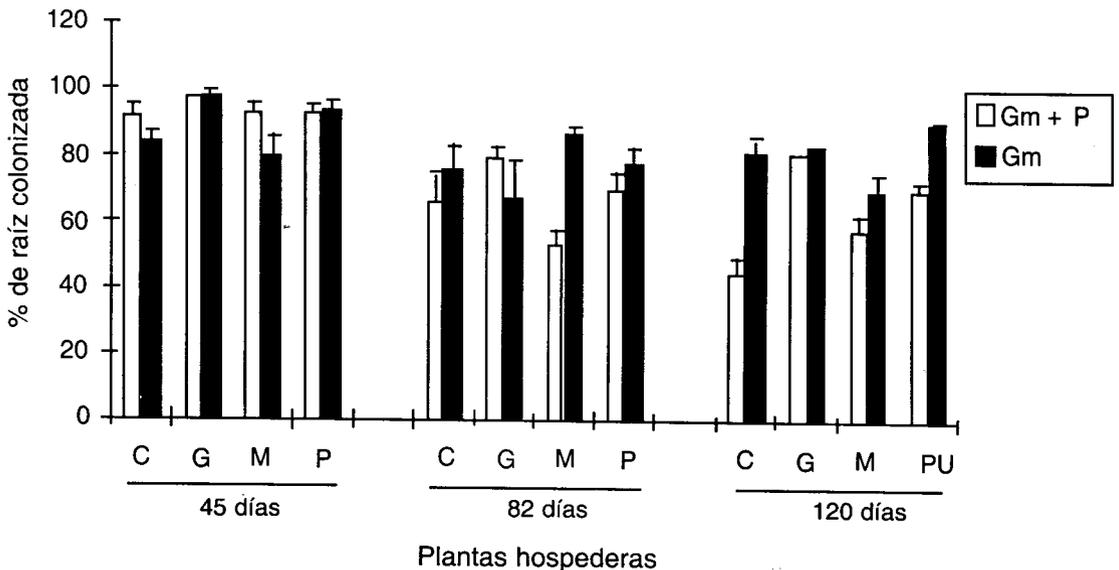


Fig. 1. Medias ($n=3$) y errores estándar del porcentaje de raíz colonizada por *Glomus manihotis* (Gm) de 5 plantas hospederas en 2 niveles de fósforo: 0 y 200 kg de P_2O_5 /ha (+P) y en 3 diferentes edades de las plantas (C=chile dulce, G=gandul, M=maíz, P=pepino y PU=puerro).

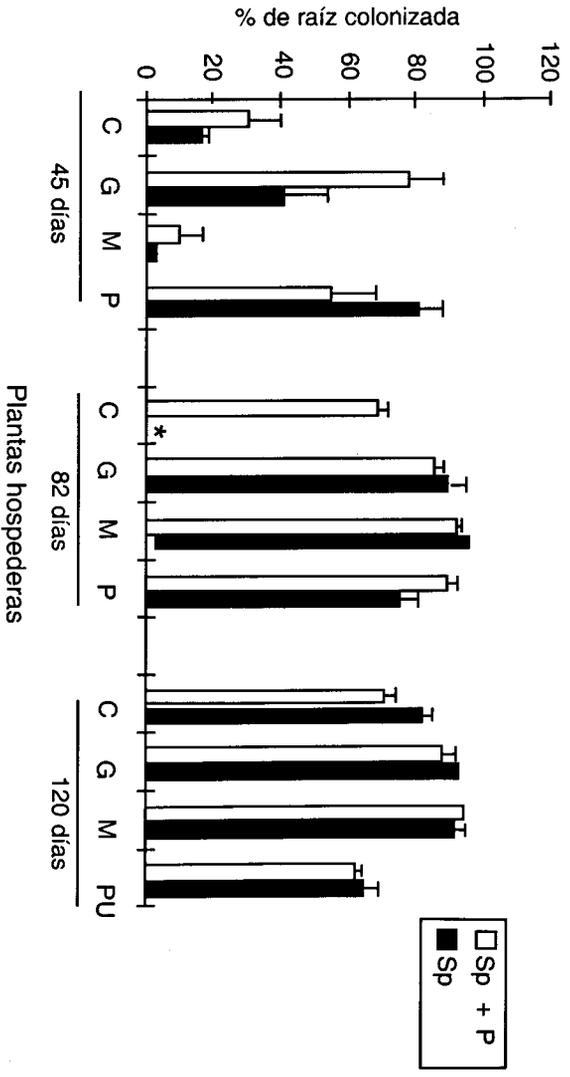


Fig. 2. Medias ($n=3$) y errores estándar del porcentaje de raíz colonizada por *Scutellospora pellucida* (Sp) de 5 plantas hospederas en 2 niveles de fósforo: 0 y 200 kg de P_2O_5/ha (+P) y en 3 diferentes edades de las plantas (C=chile dulce, G=ganduli, M=maíz, P=pepino y PU=puerro).
*La evaluación en chile dulce no se realizó debido al escaso desarrollo radical.

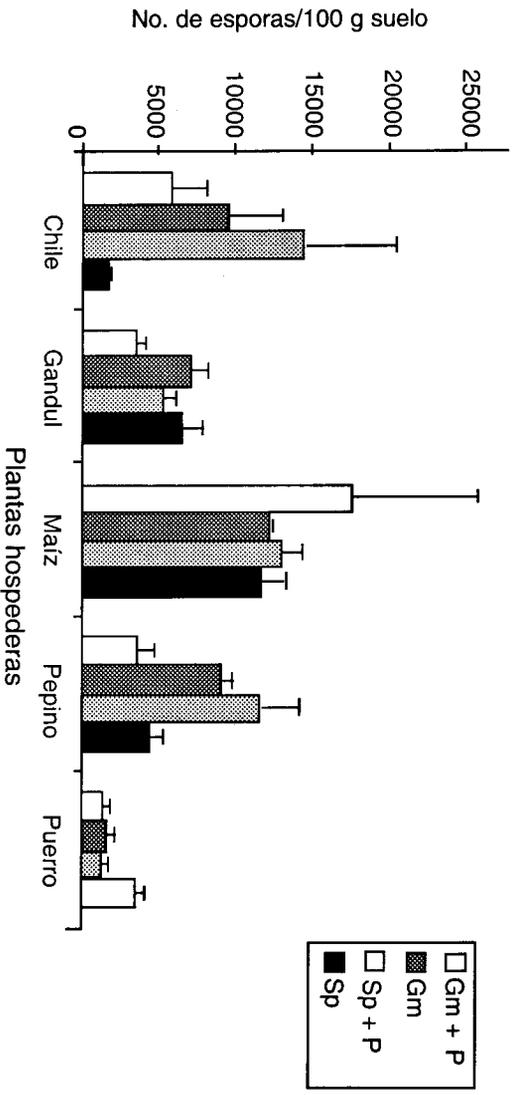


Fig. 3. Número de esporas de *Glomus manihotis* (Gm) y *Scutellospora pellucida* (Sp) producidas a los 120 días en 5 plantas hospederas y 2 niveles de fósforo: 0 y 200 kg de P_2O_5/ha (+P). Barras de error son errores estándar ($n=3$).

DISCUSION

Con el método de cultivo en macetas es posible obtener inóculo de micorriza en aproximadamente 4 a 6 semanas. Este consistiría principalmente de las raíces colonizadas por el hongo de interés, porque en tan corto tiempo no se producen esporas en cantidad suficiente. En el caso de *S. pellucida* es preferible escoger como planta hospedera al gandul o pepino, que fueron más susceptibles a su colonización, en vez de chile dulce o maíz que resultaron más lentamente colonizadas. El inóculo, con solo raíces colonizadas como propágulos infectivos, es de excelente calidad siempre y cuando se utilice de inmediato, porque sin la planta viva el micelio colonizador muere en pocas semanas, aun almacenado en un ambiente fresco. De esta forma se puede producir un inóculo primario de alta capacidad infectiva (comparado con las esporas), usado para inocular plantas hospederas alternas como gramíneas, práctica que ayuda a reducir la posible proliferación de patógenos entre un cultivo y otro (Hass y Krikum 1985).

Con *G. manihotis* todos los hospederos resultaron rápidamente colonizados (45 días) por tanto la selección del hospedero para obtener inóculo de sólo raíces colonizadas como propágulos infectivos, dependerá de otros criterios; como, el tamaño del sistema radical (cantidad de raíces colonizadas por maceta). Se ha comprobado que *G. manihotis* es un rápido colonizador del sistema radical de muy diversos hospederos (Sieverding 1991) y cuando ha sido comparado con la especie *S. pellucida* siempre la aventaja (Sieverding 1988, Rojas 1992). Las diferencias entre HMA son ligados al comportamiento de la germinación de la espora y los eventos de pre y posinfección (Giovannetti y Gianinazzi-Pearson 1994).

La curva de crecimiento del hongo dentro del sistema radical presenta por lo general una forma sigmoide, con una fase de crecimiento inicial lag, seguida de la fase exponencial, hasta alcanzar un crecimiento máximo y mantenido a través del tiempo. Esta última fase de crecimiento fue evidente para *G. manihotis* desde los 45 días. Es conocido que esta fase no es estática, debido a que los factores que afectan la tasa del cre-

cimiento relativo de la raíz o del hongo pueden cambiar el equilibrio entre el desarrollo de ambos (Sieverding 1991), como ocurrió con el chile dulce y el maíz, donde se presentó una disminución de la colonización después de los 82 días, pero sólo cuando se aplicó fósforo. Hung et al. (1990) obtuvieron una disminución del porcentaje y longitud de raíz colonizada, ocasionada por el aumento del suplemento de fósforo, señalan como causas probables un aumento de la concentración de P en el tejido que disminuye la permeabilidad de la membrana, la concentración de carbono en la raíz y los exudados radiculares. El gandul no mostró una marcada disminución de la colonización por efecto del P a través del tiempo, este hospedero junto al puerro, independientemente del nivel de P en el suelo, resultaron altamente dependientes a la micorriza para su crecimiento; mientras que la dependencia del maíz, chile dulce y pepino disminuyó cuando el nivel de P en el suelo fue mayor (datos no demostrados), su sistema radical fue más eficiente para la absorción de P, por tanto a mayor disponibilidad de este elemento menor necesidad de la micorriza.

Por el contrario, por ser lenta para colonizar, *S. pellucida* estaba en proceso de alcanzar los niveles más altos y sostenidos de colonización después de los 82 días.

Al final del ensayo, los sistemas radicales de las especies de plantas evaluadas resultaron con altos porcentajes de colonización por los HMA. Si se considera esta característica como indicador del potencial de inóculo (Menge y Timmer 1982), resulta obvio el alto potencial de todas ellas. El inóculo final producido mediante la técnica empleada en este experimento, consiste de una mezcla de suelo, esporas, hifas externas y fragmentos de raíces del hospedero colonizado, de tal forma que la diferencia entre la cantidad de inóculo producido por hospedero es determinada por la densidad de propágulos producidos (raíces colonizadas y esporas/g de suelo seco), como más adelante se discute.

En la producción de inóculo de HMA es necesario seleccionar la planta hospedera para maximizar la densidad de propágulos infectivos, principalmente porque los HMA esporulan en cantidad diferente según el hospedero con que se

asocien (Struble y Skipper 1988, Toro y Sieverding 1988, Simpson y Daft 1990, Reis et al. 1991), condición que se presentó en el presente trabajo.

En la producción de inóculo de HMA es importante conocer la cantidad de esporas producidas, especialmente si el inóculo no se emplea de inmediato y debe almacenarse por algunos meses; de ser así, los únicos propágulos infectivos en el inoculante serán las esporas que permanecen viables incluso por años.

El orden de selección de la planta hospedera basándose únicamente en el número de esporas fue: maíz > Chile dulce=pepino=gandul > puerro.

La media general del número de esporas (considerando los 2 hongos y los 2 niveles de P) en maíz fue de 13547 esporas/100 g de suelo seco, valor superior a los contabilizados en leguminosas forrajeras (11000 esporas/100 g suelo seco) y muy superiores a los encontrados en gramíneas forrajeras (de 1000 a 4700 esporas/100 g suelo seco) (Sieverding 1984a).

Se ha comprobado que los HMA asociados a maíz producen mayor cantidad de esporas comparado con otras especies de plantas hospederas, tanto en condiciones de campo (Malibari et al. 1988) como a nivel de invernadero (Struble y Skipper 1988, Simpson y Daft 1990).

Entre las características anatómicas del maíz que favorecieron la mayor producción de esporas de los HMA se encuentra; su gran tamaño grande asociado a un sistema radical abundante y ramificado, con mayor superficie para la colonización por los HMA (Ferguson y Woodhead 1982) y para la producción de esporas de hongos que esporulan dentro de las raíces, como *G. manihotis* (Howeler 1984). En condiciones de invernadero con suficiente temperatura y luz, se recomiendan como hospederos las gramíneas tropicales; tales como, maíz, *Sorghum* sp. y *Paspalum* sp., que desarrollan rápidamente un sistema radical fibroso (Ferguson y Woodhead 1982, Brundrett et al. 1996).

El sistema radical del maíz resultó muy colonizado (120 días), con la ventaja de que cada raíz colonizada se convierte en un propágulo potencial de la micorriza, siempre y cuando el inóculo se utilice fresco, porque el micelio muere en

pocas semanas, motivo por el cual Howeler (1984) recomienda este cultivo para producir inóculo en 4 meses, pero menciona que pierde calidad al morir el maíz.

Entre las características fisiológicas del maíz que pudieron favorecer la mayor producción de esporas de los HMA fue su floración; cuando ésta ocurre se presentan en la planta fluctuaciones en los niveles de hormonas que inducen la esporulación de los hongos (Gemma et al. 1989), también la senescencia que experimenta luego de la floración, induce la esporulación y disminuye la colonización del hongo (Furlan y Fortin 1973, Gemma et al. 1989). Es conocido que al final del ciclo de vida de las plantas anuales se presenta la mayor producción de esporas por los HMA (Gemma y Koske 1988).

Pese a los comentarios anteriores, tal parece que la característica que más influyó en el mayor número de esporas presentado en maíz, fue su abundante sistema radical, porque el pepino también experimentó floración y senescencia natural y el chile dulce floración, pero en éstos hospederos se encontró menor cantidad de esporas.

No hubo diferencias en el número de esporas determinadas en gandul, pepino y chile dulce (medias de 7870, 7121 y 5580 esporas/100 g de suelo seco); sin embargo, en la selección entre éstos hospederos para producir inóculo de HMA se pueden considerar otros criterios; por ejemplo, la mayor susceptibilidad del gandul y pepino a la colonización por los HMA respecto al chile dulce; la aplicación de P en chile dulce y pepino afectó de forma variable (+,-) la producción de esporas, mientras con gandul no hubo efecto del P; ésta leguminosa presenta otras características que pueden favorecer su selección: es perenne con respuesta a la poda, práctica que ayuda a inducir la esporulación (Ferguson y Woodhead 1982) y a mantener el cultivo en condiciones de invernadero por periodos prolongados con inóculo fresco hasta su utilización, esto favorece para tener una colección de cepas de HMA vivas. Su capacidad para fijar nitrógeno, por medio del *Rhizobium* asociado, es otra ventaja de esta leguminosa para reducir la fertilización nitrogenada. Es conocido que la triple asociación favorece a los 3 simbiosistas (Azcón y Barea 1980, Sieverding 1984a).

El puerro, a pesar de ser micótrofo obligado, fue la especie de planta donde se presentó la menor cantidad de esporas (1850 esporas/100 g suelo seco). Su sistema radical aunque fue normal y muy colonizado por los HMA, visualmente fue el de menor extensión, comparado con los otros hospederos evaluados. Tal parece que la temperatura y los niveles de luz ocurridos durante el experimento no fueron los óptimos para el puerro. Las especies de *Allium* son preferidas como hospederos en ambientes con temperaturas o niveles de luz bajos (Brundrett et al. 1996).

Como se mencionó, el ambiente también afecta de forma diferente la asociación simbiótica (Sieverding 1984b, Linderman 1988); por ejemplo, el fósforo en la solución del suelo es uno de los componentes que más influye en los hongos *Glomales*, aunque no es la norma algunas especies incluso requieren altos niveles de P para esporular (Toro y Sieverding 1988, Zambolim et al. 1992). En el presente caso *S. pellucida* presentó mayor número de esporas asociada a chile dulce y pepino cuando se aplicó P. Esto se explica porque el fósforo aplicado influyó de forma positiva y significativa el crecimiento de estas plantas (datos no demostrados), por lo tanto debido al mayor sistema radical hubo mayor longitud de raíz colonizada y mayor producción de esporas. No se presentó un fuerte efecto inhibitorio del P sobre la micorriza, demostrado por los altos porcentajes de colonización obtenidos, probablemente porque gran parte del P aplicado se fijó. El suelo usado se clasifica como un Andisol derivado de cenizas volcánicas, con una alta capacidad de fijación de P, debido a los altos contenidos de alofana. Sin embargo, con el pepino se afectó negativamente la producción de esporas de *G. manihotis* cuando se aplicó fósforo. Como se mencionó antes este hospedero mostró menor dependencia a la micorriza al nivel más alto de P en el suelo. El efecto inhibitorio del P se debe principalmente a alteraciones en la fisiología del hospedero más que a un efecto directo del P en el suelo sobre el hongo (Schwab et al. 1991).

El control de los niveles de P es crítico en la producción de inóculo, los niveles óptimos pueden variar entre plantas hospederas, suelos y

aislamientos de hongos (Jarstfer y Sylvia 1993), como ocurrió en el presente trabajo.

En conclusión, de los 5 hospederos evaluados, el maíz fue la planta más promisoriosa para producir inóculo de los 2 HMA; el chile dulce, pepino y gandul siguieron en importancia, especialmente por la cantidad de esporas de los HMA encontradas, los 2 últimos fueron muy susceptibles a la colonización por ambos hongos, por lo que podrían ser empleados para producir inóculo rápido (1.5 meses) consistente de sólo raíces infectadas. El puerro fue el hospedero menos eficiente para producir inóculo de los HMA. La aplicación de P no afectó la producción de esporas en maíz y gandul, pero sí afectó en pepino, chile dulce y puerro.

LITERATURA CITADA

- AZCON, G. de A.; BAREA, J.M. 1980. Micorrizas. Investigación y Ciencia 47:8-16.
- BLANCO, F.A.; SALAS, E.A. 1997. Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. Agronomía Costarricense 21(1):55-67.
- BRUNDRETT, M.; BOUGHER, N.; DELL, B.; GROVE, T.; MALAJCZUK, N. 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agricultural Research Monograph 32. 374 p.
- FERGUSON, J.J.; WOODHEAD, S. H. 1982. Production of endomycorrhizal inoculum A. Increase and maintenance of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. In: Methods and principles of mycorrhizal research. Ed. by N.C. Schench. USA American Phytopathological Society. p. 47-53.
- FURLAN, V.; FORTIN, J.A. 1973. Formation of endomycorrhizae by *Endogone calospora* on *Allium cepa* under three temperature regimes. Naturaliste Can. 100:467-477.
- GEMMA, J. N.; KOSKE, R. E. 1988. Seasonal variation in spore abundance and dormancy of *Gigaspora gigantea*: Chemotropism of germ-tubes and root growth response. Trans. Br. Mycol. Soc. 91(1):211-216.
- GEMMA, J.N.; KOSKE, R.E.; CARREIRO, M. 1989. Seasonal dynamics of selected species of V-A mycorrhizal fungi in a sand dune. Mycol. Res. 92(3):317-321.

- GIOVANNETTI, M.; GIANINAZZI-PEARSON, V. 1994. Biodiversity in arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycol. Res.* 98(7):705-715.
- HASS, J.H.; KRIKUM, J. 1985. Efficacy of endomycorrhizal-fungus isolates and inoculum quantities required for growth response. *New Phytol.* 100:613-621.
- HOWELLER, R.H. 1984. Aspectos prácticos de la investigación de las micorrizas en Colombia. *In: Memorias del primer curso Nacional sobre micorrizas.* Ed. por E. Sieverding, M. Sánchez y N. Bravo. Universidad Nacional de Colombia. p. 44-61.
- HUNG, L.L.; SYLVIA, D.M.; O'KEEFE, D.M. 1990. Isolate selection and phosphorus interaction of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in biomass crops. *Soil Sci. Am. J.* 54:762-768.
- JANOS, D.P. 1988. Mycorrhiza applications in tropical forestry are temperate-zone approaches appropriate? *In: Trees and mycorrhiza.* Ed. by Forest Research. F.S.P. Lumpur, Kuala, Malasia. p. 133-188.
- JARSTFER, A.G.; SYLVIA, D.M. 1993. Inoculum production and inoculation strategies for vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *In Soil Microbial Ecology Applications in Agriculture and Environmental Management.* Ed. by Metting, F.B. Marcel Dekker, Inc. New York. p. 349-377.
- JENKINS, W.R. 1964. A rapid centrifugal flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Reporter* 48(9):692.
- KOIDE, R.T. 1991. Density-dependent response to mycorrhizal infection in *Abutilon theophrasti* Medic. *Oecologia* 85:389-395.
- LINDERMAN, R.G. 1988. VA (Vesicular-arbuscular) mycorrhizal symbiosis. *ISI Atlas of Science: Animal and Plant Sciences* 1:183-188.
- MALIBARI, A.A.; AL-FASSI, F.A.; RAMADAN, E.M. 1988. Incidence and infectivity of vesicular-arbuscular mycorrhizas in some Saudi soils. *Plant and Soil* 112:105-111.
- MENGE, J.A.; TIMMER, L.W. 1982. Procedures for inoculation of plants with vesicular-arbuscular mycorrhizae in the laboratory, greenhouse, and field. *In: Methods and principles of mycorrhizal research.* Ed. by N.C. Schench. USA. American Phytopathological Society. p. 59-68.
- PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 55:158-161.
- REIS, M.A.; ZAMBOLIM, L; NASCIMENTO J. 1991. Potencial de utilização de gramíneas para multiplicação de inóculo de fungo micorrizico vesículo arbuscular *Glomus etunicatum.* *Fitopatol. Bras.* 16(3):164-170.
- ROJAS, M.I. 1992. Efecto de la micorrización sobre el crecimiento de 3 especies forestales en 2 suelos de Guanacaste, Costa Rica. Tesis Maestría. Universidad de Costa Rica. 73 p.
- SAIF, S. R. 1984. Interacción de *Rhizobium*-micorriza VA en leguminosas tropicales. *In: Investigaciones sobre micorrizas en Colombia.* Memorias del Primer Congreso Nacional sobre micorrizas. Ed por E. Sieverding, M. Sánchez y N. Bravo. Universidad Nacional de Colombia. p. 15-43.
- SANCHEZ, P.A.; SALINAS, J.G. 1981. Low-input technology for managing oxisols and ultisols in tropical America. *Advances in Agronomy* 34:279-406.
- SCHWAB, S.M.; MENGE, J.A.; TINKER, P.B. 1991. Regulation of nutrient transfer between host and fungus in vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytol.* 117:387-398.
- SIEVERDING, E. 1984a. Selección de hospederos, sustrato de suelo, nivel y fuente de fósforo para la producción de esporas de hongos vesículo-arbuscular. *In: Investigaciones sobre micorrizas en Colombia.* Memorias del Primer Congreso Nacional sobre Micorrizas. Ed. por E. Sieverding, M. Sánchez y N. Bravo. Universidad Nacional de Colombia. p. 237-250.
- SIEVERDING, E. 1984b. Aspectos básicos de la investigación de la micorriza vesículo-arbuscular. *In: Investigaciones sobre micorrizas en Colombia.* Memorias del Primer Congreso Nacional sobre Micorrizas. Ed por E. Sieverding, M. Sánchez y N. Bravo. Universidad Nacional de Colombia. p. 1-14.
- SIEVERDING, E. 1983. Manual de métodos para la investigación de la micorriza vesículo-arbuscular en el laboratorio. CIAT, Proyecto Micorriza. Colombia. 116 p.
- SIEVERDING, E. 1988. Effect of soil temperature on performance of different VA mycorrhizal isolates with cassava. *Angew Botanik* 62:295-300.
- SIEVERDING, E. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhizal management in tropical agrosistemas. Technical Cooperation, Federal Republic of Germany. 371 p.

- SIMPSON, D.; DAFT, M.J. 1990. Spore production and mycorrhizal development in various tropical crop hosts infected with *Glomus clarum*. *Plant and Soil* 121:171-178.
- STRUBLE, J.E.; SKIPPER H.D. 1988. Vesicular-arbuscular mycorrhizae following beach nourishment as influenced by plant species. *Plant and Soil* 109:277-280.
- TORO, S.L.; SIEVERDING, E. 1988. Fisiología de la micorriza vesículo-arbuscular. *In: Investigaciones sobre micorrizas en Colombia N°2*. Ed. por F.H. Orozco. Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo. p. 55-63.
- ZAMBOLIM, L.; REIS, M.A.; COSTA, L.M. 1992. Substratos para multiplicação de inoculo do fungo micorrizico vesiculo-arbuscular *Glomus etunicatum*. *Fitopatol. Bras.* 17:28-31.