

**PAPEL DE LA ENDOMICORRIZA V-A EN LA TRANSFERENCIA DE
EXUDADOS RADICALES ENTRE FRIJOL Y MAIZ SEMBRADOS EN
ASOCIACION BAJO CONDICIONES DE CAMPO**

**The Role of V-A Mycorrhizae in the Transfer of Root
Exudates Between Associated Bean and Corn
Plants Under Field Conditions**

R.A. Guzmán-Plazola¹⁾, R. Ferrera-Cerrato¹⁾ y G.J. Bethlenfalvay²⁾

Colegio de Postgraduados, 56230 Montecillo, Méx.¹⁾

**Western Regional Research Center, USDA-ARS, Albany,
CA 9470, U.S.A.²⁾**

Palabras clave: Micorriza, Exudados radicales,
Cultivos asociados.

Index words: Mycorrhizae, Root exudates, Plant
associations.

RESUMEN

En un experimento de campo con suelo fumigado, se cultivó maíz y frijol de tal forma que sus raíces quedasen en posibilidad de ser interconectadas por micelio de hongos micorrízicos vesículo-arbusculares (MVA). Para evitar que la raíz de una especie se mezclara con la de la otra, las plantas quedaron separadas por barreras de unicel (3.5 cm de grosor). En algunos tratamientos, fueron colocadas o no ventanas (600 cm²) con un sistema de doble malla (44 m de diámetro de poros) en ambos lados de la barrera, lo cual permitió mantener una zona intermedia con suelo libre de raíces donde fue posible el paso de las hifas micorrízicas conectadas a las plantas de ambos lados de la ventana. Fueron evaluados cuatro tratamientos: 1) frijol inoculado con hongos MVA, maíz no inoculado, 2) maíz inoculado, frijol no

inoculado, 3) ninguna planta inoculada y 4) ninguna planta inoculada, barrera sin ventana. El micelio de los hongos micorrízicos fue capaz de formar interconexiones entre ambas especies y colonizar el sistema radical de las plantas no inoculadas. Las plantas de frijol pertenecientes al tratamiento 2, micorrizadas a través de la llegada de hifas procedentes del maíz, tuvieron mayor crecimiento y contenido de N y P que las correspondientes al tratamiento 3. Las plantas de maíz del tratamiento 1, micorrizadas por micelio procedente del frijol, tuvieron un crecimiento similar a las del testigo sin micorriza. El crecimiento de ambas especies no pudo ser atribuido al posible transporte de nutrientes a través de los hongos MVA. Dado que las plantas no micorrizadas separadas por la barrera de poliestireno sin ventana, crecieron menos y fueron más deficientes de N y P que las plantas no micorrizadas separadas por la barrera con la doble malla, se concluye que el intercambio de exudados radicales modificó positivamente el efecto de la micorriza sobre el crecimiento de las plantas.

SUMMARY

The roots of bean and corn plants grown in the field as intercrops were shown to be

Recibido 6-91.

connected by the mycelia of vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungi. Both crop species were planted in fumigated soil, and to prevent an intermingling of roots, the plants were separated by rubber-foam barriers. Screened (44µm openings) windows (600 cm²) in the barriers were permeable by fungi (hyphae only, which connected plants growing on opposite sides of the windows). Double screens, affixed to the two sides of the 3.5 cm wide barrier provided root-free zones of soil between associated corn and bean plants. There were four treatments: 1) bean plants only inoculated with VAM fungi, 2) corn only inoculated, 3) neither plant inoculated, and 4) neither plant inoculated and separated by a solid (windowless) barrier. The VAM mycelium formed bridges through the root-free soil zones between plants, and colonized the roots of the initially uninoculated plants. The initially uninoculated bean plants of treatment 2 were larger and had greater N and P contents than those of non VAM plants of treatment 3. The initially uninoculated corn plants of treatment 1, however, were not superior to the non VAM controls. Growth effects of either species could not be ascribed to interplant nutrient transport by fungi. Since non VAM plants separated by the solid barrier were smaller and more deficient in N and P than non VAM plant separated by screens, it is concluded that an exchange of stimulatory substances originating from the associated plant root zones modifies mycorrhiza-mediated growth effects.

INTRODUCCION

Las leguminosas aportan cantidades significativas de nitrógeno en los ecosistemas a través de la fijación biológica de N₂. En sistemas de cultivo asociado, estas plantas son un factor importante para obtener alta productividad en forma sostenida cuando el uso de insumos es reducido (Granados, 1989). En praderas mixtas se ha determinado que las leguminosas son capaces de transferir una cantidad significativa de nitrógeno a los pastos que se hayan asociados, la cual puede representar de 25 a 80% del nitrógeno total

presente en la gramínea, dependiendo del tipo de especies involucradas, el manejo y la edad del cultivo (Brophy *et al.*, 1987; Ta y Faris, 1987a y 1987b; Burity *et al.*, 1989). Este fenómeno ha sido explicado por la excreción de compuestos nitrogenados por el sistema radical y la descomposición de nódulos y raíces (Ta *et al.*, 1986; Ta y Faris, 1987a y 1987b; Burity *et al.*, 1989).

En diversas investigaciones se ha demostrado que los hongos endomicorrizicos V-A estimulan la actividad fijadora de nitrógeno debido generalmente a su efecto en el mejoramiento de la capacidad de absorción de fosfatos del suelo (Barea y Azcón-Aguilar, 1983; Guzmán-Plazola y Ferrera-Cerrato, 1990). Estos hongos también están involucrados en la transferencia inter e intraespecífica de carbono, nitrógeno y fósforo entre plantas, mediante translocación a través de puentes hifales formados a nivel radical o mediante el mejoramiento de la capacidad de las plantas aceptoras micorrizadas para absorber los compuestos exudados por las especies donadoras (Chiariello *et al.*, 1982; Francis *et al.*, 1986; Grime *et al.*, 1987; Heap y Newman, 1980; Hirrel y Gerdemann, 1979; Newman y Ritz, 1986; Ritz y Newman, 1984; Van Kessel *et al.*, 1985; Whittingham y Read, 1982). Se ha sugerido que las interconexiones hifales, además de favorecer la sobrevivencia de plántulas en condiciones de competencia (Read *et al.*, 1976; Whittingham y Read, 1982), en comunidades vegetales son un mecanismo para la conservación de nutrimentos presentes en raíces micorrizadas en descomposición, sin que estos pasen al suelo (Janos, 1983) y son también un factor importante en la diversidad vegetal (Francis *et al.*, 1986; Grime *et al.*, 1987); sin embargo, hasta el presente es reducido el número de especies que se han examinado con el propósito de evaluar ese fenómeno (Newman, 1988).

En los agroecosistemas tradicionales de México es muy frecuente la siembra de varias especies en forma asociada; en ellos son muy comunes el maíz y el frijol. En algunos casos estos sistemas no involucran el uso de fertilizantes químicos, por lo que es posible

que además del aporte de los residuos vegetales provenientes de la parte aérea, la transferencia directa o indirecta de nitrógeno y otros nutrimentos a nivel radical entre la leguminosa y la gramínea, sea un factor importante en el mantenimiento de la productividad bajo tales condiciones. En este caso la acción de los hongos endomicorrízicos podría ser un elemento clave.

En el presente trabajo se estudió la formación de interconexiones hifales entre maíz y frijol sembrados en forma asociada en condiciones de campo, y su efecto sobre la producción de biomasa y contenido nitrógeno y fósforo de cada cultivo.

MATERIALES Y METODOS

Se estableció un experimento en condiciones de campo, en un suelo con profundidad media de 70 cm, que contenía 11 ppm P (Olsen), 0.07% de N, 1.23% de materia orgánica y 0.34, 23.1, 5.42 y 42 mg/g de K, Ca, Mg y Na, respectivamente.

Se sembró maíz asociado con frijol pero con sus sistemas radicales separados ya sea por una doble malla o por una barrera de unicel grueso (3.5 cm). Según el tratamiento se inocularon las plantas de maíz o de frijol de cada unidad experimental con hongos endomicorrízicos V-A o se dejaron sin inocular. Con la inoculación de una de las especies en los tratamientos con malla se esperaba que el hongo micorrízico además de colonizar a la planta tratada, atravesara las mallas y colonizara el sistema radical de las plantas contiguas afectando así su desarrollo y contenido nutricional, ya sea por el efecto micorrízico *per se* o por la transferencia de nutrimentos. En este reporte denominaremos "donadoras" a las plantas inoculadas y "ceptoras" a las plantas no inoculadas pero que recibieron micelio por transferencia directa de las inoculadas.

Se evaluaron los siguientes tratamientos:

1. Frijol (donador) inoculado con hongos micorrízicos y maíz no inoculado (ceptor). Sistemas radicales separados mediante una doble malla.
2. Frijol no inoculado (ceptor) y maíz inoculado (donador). Sistemas radicales separados mediante una doble malla.
3. Ambas especies sin inóculo micorrízico. Sistemas radicales separados mediante una doble malla.
4. Ambas especies sin inóculo micorrízico. Sistemas radicales separados por una barrera de unicel de 3.5 cm de grosor.

En los tratamientos 1, 2 y 3 el sistema de mallas sólo permitió el paso de las hifas micorrízicas pero no de las raíces. Antes del establecimiento del experimento las mallas fueron colocadas a ambos lados de las placas de unicel de 100 cm de largo x 100 cm de alto x 3.5 cm de grosor, abriendo para tal efecto una ventana de 30 x 20 cm. El espacio entre mallas fue rellenado con suelo fumigado previamente. En el tratamiento 4 se utilizaron placas de unicel sin ventana.

Para la preparación de las unidades experimentales, en la parte central de cada una de ellas se procedió a excavar una fosa de 2 m de largo x 1 m de ancho y 80 cm de profundidad. La ubicación de las excavaciones en todo el experimento fue definida con base en un diseño en bloques al azar con cuatro repeticiones. Dada la escasa profundidad del suelo fue necesario romper de 10 a 20 cm de tepetate para lograr una profundidad uniforme. En la parte central de las fosas correspondientes a los tratamientos con mallas, se colocaron en forma perpendicular dos placas de unicel con el sistema de doble malla descrito anteriormente (Figura 1). La periferia de cada fosa fue delimitada mediante una barrera de unicel sin perforaciones. En el tratamiento 4 se colocaron placas sin ventana en todos los casos.

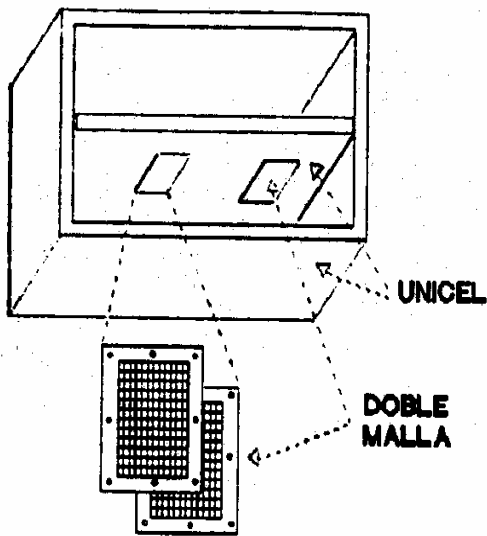


Figura 1. Distribución de las placas de unicel y mallas en la parcela útil, en campo.

Una vez colocadas las barreras de unicel se procedió a rellenar cada fosa con el suelo extraído previamente. La zona donde fueron colocadas las placas centrales de cada unidad

experimental correspondió al área de siembra de un surco normal. La unidad experimental constó finalmente de tres surcos de 3 m de largo, separados 90 cm entre sí. El área útil de cada parcela quedó delimitada por los bordes de las placas de unicel (Figura 2).

Quince días antes de la siembra, cada unidad experimental fue fumigada con 7.5 libras de bromuro de metilo, utilizando polietileno de color negro como cubierta, la cual fue retirada una semana después. Durante la semana siguiente el suelo fue revuelto diariamente con una pala para facilitar la liberación del biocida.

La siembra fue realizada el 17 de julio de 1989; la distancia entre matas dentro de cada surco fue de 1 m; se sembraron cinco semillas de cada especie con el propósito de dejar las dos plántulas más vigorosas. En la parcela útil (dos matas de cada especie por parcela), el maíz y el frijol fueron sembrados por separado en lados opuestos de la barrera, de

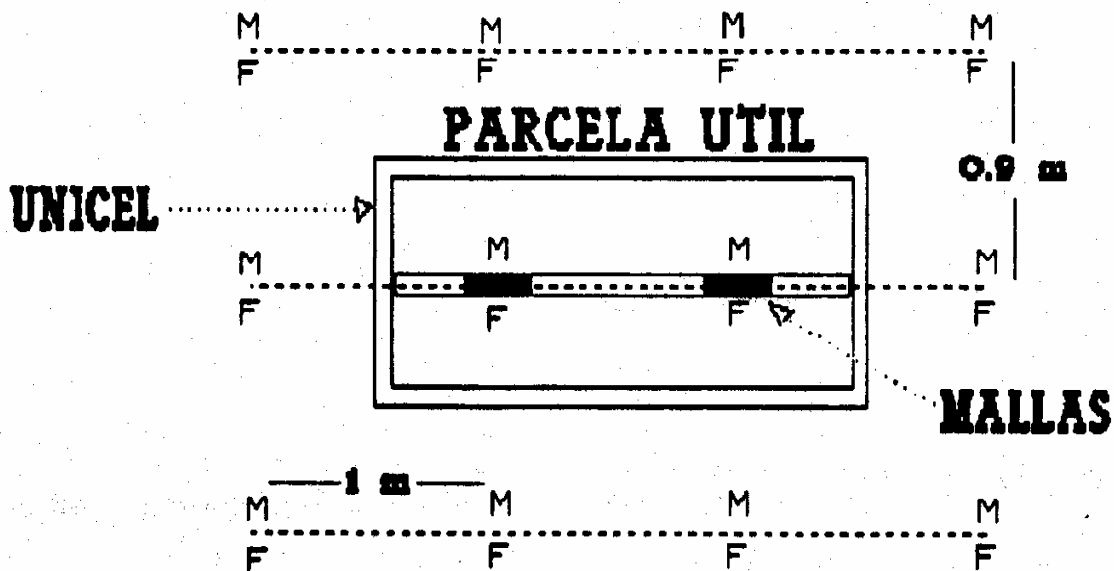


Figura 2. Características de la unidad experimental. M = maíz F = frijol. En campo.

tal forma sus raíces quedasen posteriormente en contacto con la parte externa de las mallas. En los tratamientos inoculados se depositaron junto con la semilla de la especie apropiada 100 ml de suelo-inóculo que contenía aproximadamente 1200 esporas de hongos endomicorrizicos y 1 g de raíces de alfalfa con 75% de colonización por la cepa Zac-3 de *Glomus sp.* Todas las semillas de frijol fueron impregnadas, al momento de la siembra, con inoculante a base de turba, que contenía 1×10^6 bacterias de *Rhizobium leguminosarum* bv *phaseoli* CPMEX-1 g^{-1} de turba. En ningún caso se aplicaron fertilizantes al suelo.

Se efectuó un muestreo a 75 días de la siembra. Fue revisada la totalidad del suelo disponible en el sistema radical de cada especie con el propósito de coleccionar las raíces para su evaluación posterior. En cada especie se evaluó el área foliar, el peso seco de la parte aérea, el peso seco y volumen de raíz, la colonización micorrizica y el contenido de nitrógeno y fósforo en parte aérea y raíz.

El área foliar fue evaluada inmediatamente después del muestreo, mediante un integrador de área marca Li-Cor modelo LI-3050A. Para la determinación de los pesos secos, los diferentes materiales fueron sometidos previamente a 70°C durante 72 horas utilizando una estufa de aire forzado. Para la evaluación de la colonización micorrizica las raíces de cada planta fueron cortadas en segmentos de 1 a 1.5 cm y mezcladas cuidadosamente para tomar una muestra representativa de 2 a 3 g de peso fresco, la cual fue fijada mediante una solución preparada con 65 ml de formol, 25 ml de ácido acético glacial y 1000 ml de alcohol al 50%; posteriormente se realizó el clareo y coloración con base en el método de Phillips y Hayman (1970). La colonización fue determinada mediante el método de intersección de cuadrantes descrito por Giovannetti y Mosse (1980). El peso seco de la muestra utilizada para medir la micorrización fue estimado tomando en cuenta el contenido de humedad de la fracción remanente. El peso seco de raíz fue calculado sumando el peso seco de ambas

fracciones. El porcentaje de nitrógeno fue determinado mediante el método microkjeldahl modificado para incluir nitratos (Bremner, 1975). El porcentaje de fósforo fue medido utilizando el método de digestión húmeda en ácido nítrico-perclórico y cuantificación colorimétrica en molibdo-vanadato de amonio (AOAC, 1980). La estimación de los contenidos totales de ambos elementos fue realizada con base en peso seco de cada uno de los órganos de la planta evaluados.

RESULTADOS

a) Área foliar.

Las plantas de frijol inoculadas con el hongo endomicorrizico (tratamiento 1) tuvieron mayor área foliar que las no inoculadas, correspondientes a los testigos con malla o con la barrera de unicel (sin ventana), o a las parcelas donde el frijol actuó comoceptor de hifas (Cuadro 1). En este último caso el área fue menor a la observada en el tratamiento 1 pero mayor que la de los testigos; sin embargo, en términos estadísticos no tuvo diferencias significativas con ninguno de ellos. El área foliar observada en las plantas no inoculadas, pertenecientes a los testigos con malla, fue también numéricamente mayor que la de los testigos sin malla (sin ventana), sin embargo, el efecto de ambos tratamientos resultó estadísticamente igual.

La mayor área foliar del maíz fue observada en el tratamiento 2, donde se realizó la inoculación del experimento (Cuadro 1); sin embargo, las diferencias con respecto a los testigos con o sin malla (sin ventana) no fueron significativas. La menor área foliar se observó en las plantas del tratamiento 1, donde el frijol fue inoculado y el maíz actuó comoceptor de hifas.

b) Peso seco de la parte aérea.

La biomasa de los tallos y hojas de las plantas de frijol mostró un comportamiento

Cuadro 1. Área foliar (cm²) de frijol y maíz sembrados en asociación, con diferentes tipos de interacción radical.

Tratamiento ¹⁾	Frijol	Maíz
1. Frijol donador, maíz aceptor (Frijol inoculado + malla)	5654.4a	2650.1b
2. Maíz donador, frijol aceptor (Maíz inoculado + malla)	3338.7ab	4315.3a
3. Testigo I (Sin inóculo + malla)	1897.6 b	3641.6a
4. Testigo II (Sin inóculo, con barrera de unisel y sin malla)	1379.0 b	3017.8ab

- 1) Las plantas de frijol del tratamiento 1 y las de maíz del tratamiento 2 fueron inoculadas con el hongo *Glomus* sp Zac-3.
- 2) Las medias de cada columna que tienen la misma letra son estadísticamente iguales (P = 0.05).

similar al de su área foliar (Cuadro 2). El valor más alto fue obtenido, en todos los casos, con el tratamiento 1, donde se realizó la inoculación directa (frijol donador). Cuando esta especie actuó como aceptora de hifas se obtuvo un resultado intermedio entre el tratamiento anterior y los testigos; el cual fue, con excepción del peso seco de hojas, significativamente más alto que el alcanzado con el tratamiento sin malla (sin ventana) y sin inoculación, que produjo los promedios más bajos.

Cuadro 2. Peso seco¹⁾ de la parte aérea de frijol sembrado en asociación con maíz, con diferentes tipos de interacción radical.

Tratamiento ²⁾	Hojas	Tallos
1. Frijol donador, maíz aceptor (frijol inoculado + malla)	21.7 a	23.7 a
2. Maíz donador, frijol aceptor (Maíz inoculado + malla)	14.0 ab	13.5 b
3. Testigo I (Sin inóculo + malla)	9.4 b	9.2 bc
4. Testigo II (Sin inóculo, con barrera de unisel y sin malla)	5.8 b	7.2 c

- 1) El peso seco de los tallos incluye a los pecíolos. El peso de las hojas solo incluye a la lámina foliar.
- 2) Las plantas de frijol del tratamiento 1 y las de maíz del tratamiento 2 fueron inoculadas con el hongo *Glomus* sp Zac-3.
- 3) Las medias de cada columna que tienen la misma letra son estadísticamente iguales (P = 0.05).

Los pesos secos de hojas y tallo de las plantas de maíz donadoras, fueron similares a los observados en el testigo con malla, no inoculado (Cuadro 3). Para el caso de las hojas, cuando el maíz actuó como aceptor de hifas produjo valores estadísticamente iguales a los anteriores pero muy cercanos a los observados en el testigo sin malla (sin ventana).

Cuadro 3. Peso seco (g) de la parte aérea de maíz sembrado en asociación con frijol, con diferentes tipos de interacción radical.

Tratamiento ¹⁾	Hojas	Tallo
1. Frijol donador, maíz aceptor (frijol inoculado + malla)	21.0 ab	15.3 b
2. Maíz donador, frijol aceptor (Maíz inoculado + malla)	27.2 ab	28.5 a
3. Testigo I (Sin inóculo + malla)	30.7 a	32.5 a
4. Testigo II (Sin inóculo, con barrera de unisel y sin malla)	19.5 b	15.1 b

- 1) Las plantas de frijol del tratamiento 1 y las de maíz del tratamiento 2 fueron inoculadas con el hongo *Glomus* sp Zac-3.
- 2) Las medias de cada columna que tienen la misma letra son estadísticamente iguales (P = 0.05).

c) Peso seco y volumen de raíz.

El mayor peso seco de raíz en el frijol correspondió a las plantas inoculadas al inicio del experimento. En las parcelas donde el maíz se utilizó como donador de hifas se observaron valores menores pero estadísticamente iguales al anterior (Cuadro 4). Los pesos secos de raíz de las plantas testigo resultaron significativamente más bajos, particularmente cuando el sistema radical fue separado por la barrera de unisel sin ventana.

De la misma forma que el peso seco de raíz, las plantas de frijol inoculadas con hongos endomicorrizicos mostraron mayor volumen radical que los testigos con o sin malla (barrera de unisel sin ventana).

El mayor peso seco radical del maíz fue observado en las plantas inoculadas al inicio

del experimento. Las plantas que actuaron como aceptadoras de hifas procedentes del frijol tuvieron un valor más bajo y no mostraron incrementos respecto al testigo con malla, pero sí respecto al testigo sin malla (sin ventana), el cual mostró los valores más bajos.

Las plantas de maíz inoculadas al inicio del experimento (donadoras) tuvieron mayor volumen radical que las pertenecientes a los demás tratamientos (Cuadro 5); sin embargo, el promedio solo fue significativamente mayor que el de las plantas sembradas en calidad de testigo sin malla (sin ventana) y con su sistema radical separado por una barrera de unisel.

Cuadro 4. Peso seco (g) y volumen (ml) de la raíz de frijol sembrado en asociación con maíz, con diferentes tipos de interacción radical.

Tratamiento ¹⁾	Peso	Volumen
1. Frijol donador, maíz aceptor (frijol inoculado + malla)	4.5 a	17.3 a
2. Maíz donador, frijol aceptor (Maíz inoculado + malla)	3.8 a	18.7 a
3. Testigo I (Sin inóculo + malla)	2.5 b	9.0 b
4. Testigo II (Sin inóculo, con barrera de unisel y sin malla)	1.8 b	13.0 b

- 1) Las plantas de frijol del tratamiento 1 y las de maíz del tratamiento 2 fueron inoculadas con el hongo *Glomus* sp Zac-3.
- 2) Las medias de cada columna que tienen la misma letra son estadísticamente iguales ($P = 0.05$).

Cuadro 5. Peso seco (g) y volumen (ml) de la raíz de maíz sembrado en asociación con frijol, con diferentes tipos de interacción radical.

Tratamiento ¹⁾	Peso	Volumen
1. Frijol donador, maíz aceptor (frijol inoculado + malla)	5.9 b	34.0 ab
2. Maíz donador, frijol aceptor (Maíz inoculado + malla)	9.8 a	55.0 a
3. Testigo I (Sin inóculo + malla)	5.5 bc	46.8 a
4. Testigo II (Sin inóculo, con barrera de unisel y sin malla)	3.8 c	18.0 b

- 1) Las plantas de frijol del tratamiento 1 y las de maíz del tratamiento 2 fueron inoculadas con el hongo *Glomus* sp Zac-3.
- 2) Las medias de cada columna que tienen la misma letra son estadísticamente iguales ($P = 0.05$).

d) Colonización micorrizica.

Las plantas de frijol que fueron inoculadas a inicios del experimento mostraron mayor porcentaje de raíz micorrizada que las que actuaron como aceptoras de hifas procedentes del maíz. Similarmente, las plantas de maíz que fueron inoculadas al inicio del experimento tuvieron mayor colonización micorrizica que las aceptoras de hifas procedentes del frijol. En ambas especies, las plantas testigo mostraron cierto grado de contaminación, pero la magnitud de esta fue muy baja comparada con la colonización observada en los tratamientos anteriores (Cuadro 6).

El maíz se mostró más susceptible a la colonización que el frijol, aún en las parcelas donde actuó como aceptor de hifas. El frijol inoculado desde el principio del experimento (donador), tuvo en promedio 1.6 veces menos porcentaje de colonización que el maíz sometido al mismo tratamiento. Cuando el frijol actuó como planta aceptor tuvo 2.5 veces menos. La proporción de colonización entre donador y aceptor en el tratamiento 1 (frijol donador) fue de 1.5:1, mientras que en el tratamiento 2 (maíz donador) fue de 5.8:1.

Cuadro 6. Porcentaje de longitud de raíz micorrizada de frijol y de maíz sembrados en asociación con sus sistemas radicales separados por una doble malla o por una barrera de unisel.

Tratamiento ¹⁾	Frijol	Maíz
1. Frijol donador, maíz aceptor (frijol inoculado + malla)	32.8 a	22.4 b
2. Maíz donador, frijol aceptor (Maíz inoculado + malla)	9.0 b	52.5 a
3. Testigo I (Sin inóculo + malla)	0.5 c	2.2 c
4. Testigo II (Sin inóculo, con barrera de unisel y sin malla)	0.4 c	1.3 c

- 1) Las plantas de frijol del tratamiento 1 y las de maíz del tratamiento 2 fueron inoculadas con el hongo *Glomus* sp Zac-3.
- 2) Las medias de cada columna que tienen la misma letra son estadísticamente iguales ($P = 0.05$).

e) Contenido de nitrógeno.

La presencia de micorriza determinó incrementos significativos en el contenido de nitrógeno de las plantas de frijol (Cuadro 7). Con la inoculación al inicio del experimento se obtuvieron los mayores niveles de ese elemento en raíz, tallos y hojas, pero las cantidades observadas en las plantasceptoras de hifas (tratamiento 2), aunque fueron numéricamente menores, resultaron estadísticamente iguales. Los contenidos de nitrógeno de los testigos con malla o con la barrera de unicel (sin ventana) fueron considerablemente más bajos que los obtenidos en presencia del hongo, pero en el caso de las hojas el valor resultó estadísticamente igual al de las plantasceptoras de hifas. El testigo sin malla (sin ventana), aunque tuvo menor contenido de nitrógeno en hojas y tallos que el testigo con malla y un contenido radical menor que el de las plantas del tratamiento 2, no presentó diferencias significativas en ninguno de estos casos (Cuadro 7).

Los mayores contenidos de nitrógeno en las raíces, tallos y hojas de maíz, fueron observados en las plantas micorrizadas, principalmente en las parcelas donde el hongo micorrizico fue aplicado al inicio del

experimento (Cuadro 8). Los valores inmediatos inferiores correspondieron a las plantasceptoras de hifas procedentes de las raíces del frijol (tratamiento 1). El testigo con malla, aunque tuvo contenidos más bajos que en los tratamientos anteriores, sólo en el caso de la raíz mostró diferencias significativas con respecto a ellos. Las plantas sembradas sin micorriza y con la barrera de unicel (sin ventana) tuvieron aún más bajo contenido de nitrógeno que las cultivadas sin inoculación y con malla, pero las diferencias con respecto a este tratamiento sólo fueron significativas en el caso de los tallos.

f) Contenido de fósforo.

La inoculación del frijol al inicio del experimento permitió acumular mayores niveles de fósforo en raíces, tallo y hojas que en los testigos y en las plantasceptoras de hifas (tratamiento 2), pero en estas últimas las diferencias con respecto al tratamiento 1 sólo fueron significativas en el caso del fósforo foliar. Los valores observados en las plantasceptoras fueron considerablemente más altos que los obtenidos en los testigos, particularmente en los tallos. No se detectaron diferencias entre testigos en este muestreo (Cuadro 9).

Cuadro 7. Contenido de nitrógeno (mg) en frijol sembrado en asociación con maíz, con diferentes tipos de interacción radical.

Tratamiento ¹⁾	Raíz	Tallo	Hojas
1. Frijol donador, maízceptor (frijol inoculado + malla)	112.5a	836.8a	1176.3a
2. Maíz donador, frijolceptor (Maíz inoculado + malla)	86.3ab	692.5a	821.1ab
3. Testigo I (Sin inóculo + malla)	53.6c	317.3b	490.1bc
4. Testigo II (Sin inóculo, con barrera de unicel y sin malla)	62.3bc	261.9b	324.1c

1) Las plantas de frijol del tratamiento 1 y las de maíz del tratamiento 2 fueron inoculadas con el hongo *Glomus* sp Zac-3.

2) Las medias de cada columna que tienen la misma letra son estadísticamente iguales (P = 0.05).

Cuadro 8. Contenido de nitrógeno (mg) en maíz sembrado en asociación con frijol, con diferentes tipos de interacción radical.

Tratamiento ¹⁾	Raíz	Tallo	Hojas
1. Frijol donador, maíz aceptor (frijol inoculado + malla)	139.2ab	836.3a	619.6ab
2. Maíz donador, frijol aceptor (Maíz inoculado + malla)	174.2a	796.0a	860.9a
3. Testigo I (Sin inóculo + malla)	123.0b	698.6a	667.5ab
4. Testigo II (Sin inóculo, con barrera de unisel y sin malla)	119.2b	435.4b	504.4 b

- 1) Las plantas de frijol del tratamiento 1 y las de maíz del tratamiento 2 fueron inoculadas con el hongo *Glomus* sp Zac-3.
2) Las medias de cada columna que tienen la misma letra son estadísticamente iguales (P = 0.05).

Cuadro 9. Contenido de fósforo (mg) en frijol sembrado en asociación con maíz, con diferentes tipos de interacción radical.

Tratamiento ¹⁾	Raíz	Tallo	Hojas
1. Frijol donador, maíz aceptor (frijol inoculado + malla)	8.6a	70.4a	85.6a
2. Maíz donador, frijol aceptor (Maíz inoculado + malla)	5.4ab	48.6a	50.7 b
3. Testigo I (Sin inóculo + malla)	2.9 b	21.0b	33.5 b
4. Testigo II (Sin inóculo, con barrera de unisel y sin malla)	3.6 b	13.3b	31.2 b

- 1) Las plantas de frijol del tratamiento 1 y las de maíz del tratamiento 2 fueron inoculadas con el hongo *Glomus* sp Zac-3.
2) Las medias de cada columna que tienen la misma letra son estadísticamente iguales (P = 0.05).

En las plantas de maíz se observó que los mayores niveles de fósforo en raíces, tallos y hojas estuvieron asociados con la inoculación al inicio del experimento, pero sus promedios sólo fueron significativamente más altos que los obtenidos en las plantas sin micorriza y con la barrera interradsical a base de unisel (sin ventana). El resto de tratamientos no mostró diferencias significativas entre sí (Cuadro 10).

DISCUSION

La colonización de las plantas de maíz o de frijol por invasión de micelio micorrizico asociado inicialmente a una de las dos especies, muestra claramente que en

condiciones de campo se forman de manera natural puentes de micelio micorrizico entre sus sistemas radicales. En el presente trabajo, esta colonización indirecta permitió mejorar el crecimiento y contenido de nitrógeno y fósforo de las plantas aceptoras, hasta niveles cercanos a los alcanzados en las plantas inoculadas directamente. Estos resultados apoyan el planteamiento original de Read *et al.* (1976) respecto a que en comunidades naturales las plantas adultas, previamente micorrizadas, pueden facilitar la colonización de plantas jóvenes al sostener al hongo cuando éstas se hayan en estado de plántula.

Durante todo el experimento fue evidente que el intercambio de exudados radicales

Cuadro 10. Contenido de fósforo (mg) en maíz sembrado en asociación con frijol, con diferentes tipos de interacción radical.

Tratamiento ¹⁾	Raíz	Tallo	Hojas
1. Frijol donador, maíz aceptor (frijol inoculado + malla)	6.3ab	54.6ab	63.5ab
2. Maíz donador, frijol aceptor (Maíz inoculado + malla)	11.1a	74.4a	88.8a
3. Testigo I (Sin inóculo + malla)	9.1ab	64.1ab	70.6a
4. Testigo II (Sin inóculo, con barrera de unicel y sin malla)	5.6 b	46.2 b	45.1 b

- 1) Las plantas de frijol del tratamiento 1 y las de maíz del tratamiento 2 fueron inoculadas con el hongo *Glomus* sp Zac-3.
2) Las medias de cada columna que tienen la misma letra son estadísticamente iguales (P = 0.05).

estimuló la producción de biomasa en ambas especies ya que las plantas testigo que mantuvieron separadas sus raíces por la barrera de unicel sin ventana, mostraron un crecimiento menor que las cultivadas sin micorriza pero con la doble malla. A pesar de que las diferencias entre estos tratamientos generalmente no fueron significativas, en la mayoría de las variables se observó el mismo tipo de tendencia.

Se ha reportado que la composición de los exudados radicales varía con la especie de planta (Schwab *et al.*, 1984), por lo que es de esperarse que esta variación determine que la composición microbiana de la rizósfera del maíz sea distinta cualitativamente de la del frijol. Con la mezcla de los exudados procedentes de ambas especies posiblemente ocurrió un nuevo cambio en la población de microorganismos, cuya actividad afectó la disponibilidad del fósforo, el cual fue absorbido con mayor eficiencia por las plantas cultivadas en las parcelas con la doble malla donde los exudados pudieron difundirse con el movimiento del agua en el suelo y mezclarse.

El maíz sin micorriza mostró mayor contenido de nitrógeno en las parcelas con malla (donde fue posible la difusión de exudados) que en las cultivadas con la barrera de unicel sin ventana. Barea *et al.* (1989) reportaron incrementos similares en el contenido de fósforo y nitrógeno en *Lolium*

perenne sembrado sin micorriza en asociación con alfalfa, respecto a plantas sembradas en unicultivo.

El hongo endomicorrizico además de mejorar la absorción de fósforo y nitrógeno en el maíz y frijol, permitió una mayor interacción entre sus raíces. Conforme ésta fue más intensa, debido a la acción del micelio radical común, la producción de materia seca y los contenidos de nitrógeno y fósforo se incrementaron.

No obstante que las plantas de maíz tuvieron los niveles mas altos de colonización, mostraron efectos menos claros de la inoculación micorrizica o de la formación de puentes hifales que el frijol. Es evidente entonces que la producción de biomasa estuvo asociada en primer término con la disponibilidad de nitrógeno en el sistema. La disminución en el contenido de fósforo y la producción de biomasa observada en el maíz aceptor, respecto a las plantas no micorrizadas del testigo I, es similar a la reportada previamente por Bethlenfalvay *et al.* (1991) para la asociación maíz-soya; según estos investigadores el fenómeno puede ser interpretado como transporte de fósforo del maíz a la leguminosa a través de las hifas micorrizicas.

Se ha reportado que además de estimular la fijación de N₂, debido al aumento en la absorción de fósforo (Barea y Azcón-Aguilar,

1983; Guzmán-Plazola y Ferrera-Cerrato, 1990), los hongos endomicorrizicos mejoran la absorción del nitrógeno presente en el suelo (Ames *et al.*, 1983; Barea *et al.*, 1987, 1989). Es posible que los efectos sobre el crecimiento del maíz sean debidos a la mayor absorción del fósforo y nitrógeno presentes en el suelo, pero conforme el frijol mejoró su capacidad para fijar nitrógeno atmosférico, debido al estímulo del hongo, probablemente se incrementó la transferencia de este elemento hacia el maíz mediante el micelio micorrizico, ya sea al reabsorberlo del suelo después de ser liberado de la leguminosa por exudación radical (Morgan *et al.*, 1973) o por la mineralización de nódulos senescentes (Ta y Faris, 1987a y 1987b) o bien mediante translocación directa de una planta a otra a través de los puentes hifales.

En trabajos previos se ha observado que los hongos endomicorrizicos intervienen en la transferencia de nitrógeno (Francis *et al.*, 1986; Van Kessel *et al.*, 1985), fósforo (Chiariello *et al.*, 1982; Francis *et al.*, 1986; Whittingham y Read, 1982) y carbono entre plantas (Grime *et al.*, 1987; Hirrel y Gerdemann, 1979), aunque existe cierta controversia respecto a si ocurre transferencia neta a través de los puentes hifales o si es más importante la acción del micelio extraradical una vez que ocurre liberación de compuestos por el sistema radical donador (Heap y Newman, 1980; Newman, 1988; Newman y Ritz, 1986). En nuestro trabajo, dado los incrementos en la expresión de las diversas variables evaluadas en los tratamientos sin micorriza y con malla (Testigo I), respecto a los observados en los testigos con la barrera de unicel sin ventana, podemos asumir que existe fuerte evidencia sobre la vía indirecta de translocación de nutrimentos a través del micelio micorrizico; es decir, con el sistema hifal asociado a ambas especies ocurrió una mayor asimilación de nitrógeno y fósforo por reabsorción de los compuestos exudados por las raíces, principalmente las pertenecientes a la leguminosa, que se mostró más responsiva a la inoculación. Sin embargo, nuestros resultados no descartan la vía directa de

transferencia a través de interconexiones hifales. No obstante, cualquiera que sea la vía principal de transferencia es evidente que la simbiosis juega un papel primordial en la producción de biomasa de maíz y frijol asociados, particularmente en condiciones donde no se aplican fertilizantes, como fue el caso del presente trabajo.

LITERATURA CITADA

- AOAC. 1980. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15th edition. Washington, D.C.
- AMES, R.N., C.P. REID, L.K. PORTER y C. CAMBARDELLA. 1983. Hyphal uptake and transport of nitrogen from two ^{15}N labelled sources by *Glomus mosseae*. New Phytologist 95: 381-396.
- BAREA, J.M. y C. AZCON-AGUILAR. 1983. Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen-fixing plants. Advances in Agronomy 36: 1-54.
- BAREA, J.M., AZCON-AGUILAR y R. AZCON. 1987. Vesicular-arbuscular mycorrhiza improve both symbiotic N_2 fixation and N uptake from soil as assessed with a ^{15}N technique under field conditions. New Phytologist 106: 717-725.
- BAREA, J.M., F. EL-ATRACH y R. AZCON. 1989. Mycorrhiza and phosphate interactions as affecting plant development, N_2 -fixation, N-transfer and N-uptake from soil in legume-grass mixtures by using a ^{15}N dilution technique. Soil Biol. Biochem. 21: 581-589.
- BETHLENFALVAY, G.J., M.G. REYES-SOLIS, S.B. CAMEL y R. FERRERA-CERRATO. 1991. Nutrient transfer between the root zones of soybean and maize plants connected by a common mycorrhizal mycelium. Physiologia Plantarum 82: 423-432.

- BREMMER, J.M. 1975. Total nitrogen. *In: Methods of soil analysis. Part 2. Agronomy 9: 1149-1178. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin.*
- BROPHY, L.S., G.H. HEICHEL y M.P. RUSSELL. 1987. Nitrogen transfer from forage legumes to grass in a systematic planting design. *Crop Science 27: 753-758.*
- BURITY, H.A., T.C. TA, M.A. FARIS y B.E. COULMAN. 1989. Estimation of nitrogen fixation and transfer from alfalfa to associated grasses in mixed swards under field conditions. *Plant and Soil 114: 249-255.*
- CHIARIELLO, N., J.C. HICKMAN, y H.A. MOONEY. 1982. Endomycorrhizal role for interspecific transfer of phosphorus in a community of annual plants. *Science 217: 941-943.*
- FRANCIS, R., R.D. FINLAY, y D.J. READ. 1986. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in natural vegetation systems. IV Transfer of nutrients in inter-and intra-specific combinations of host plants. *New Phytologist 102: 103-111.*
- GIOVANNETTI, M. y B. MOSSE. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist 84: 489-500.*
- GRANADOS A., N. 1989. La rotación con leguminosas como alternativa para reducir el daño causado por fitopatógenos del suelo y elevar la productividad del agroecosistema maíz en el trópico húmedo. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, México.
- GRIME, J.P., J.M.L. MACKAY, S.H. HILLIER y D.J. READ. 1987. Floristic diversity on a model system using experimental microcosms. *Nature 328: 420-422.*
- GUZMAN-PLAZOLA, R.A. y R. FERRERA-CERRATO. 1990. La endomicorriza vesicular-arbuscular en las leguminosas. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 121 p.
- HEAP, A.J. y E.I. NEWMAN. 1980. Links between roots by hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytologist 85: 169-171.*
- HIRREL, M.C. y J.W. GERDEMANN. 1979. Enhanced carbon transfer between onions infected with a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytologist 83: 731-738.*
- JANOS, D.P. 1983. Tropical mycorrhizas, nutrient cycles and plant growth. *In: Sutton, S.L., Whitmore, T.C. y Chadwick, A.C. (Eds.) Tropical Rain Forest: Ecology and Management. pp. 327-345.*
- MORGAN, M.A., R.J. VOLK y W.A. JACKSON. 1973. Simultaneous influx and efflux of nitrate during uptake by perennial ryegrass. *Plant Physiology 51: 267-272.*
- NEWMAN, E.I. 1988. Mycorrhizal links between plants: their functioning and ecological significance. *Advances in Ecological Research 18: 243-270.*
- NEWMAN, E.I. y K. RITZ. 1986. Evidence on the pathways of phosphorus transfer between vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. *New Phytologist 104: 77-87.*
- PHILLIPS, J.B. y D.S. HAYMAN. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society 55: 158-160.*
- READ, D.J., H.K. KOUCEKI y J. HODGSON. 1976. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in natural vegetation systems. I. The occurrence of infection. *New Phytologist 77: 641-653.*
- RITZ, K. y E.I. NEWMAN. 1984. Movement of ³²P between intact grassland plants of the same age. *Oikos 43: 138-142.*

SCHWAB, S., R.T. LEONARD y J.A. MENGE. 1984. Quantitative and qualitative comparison of root exudates of mycorrhizal and nonmycorrhizal plant species. *Canadian Journal of Botany* 62: 1227-1231.

TA, T.C. y M.A. FARIS. 1987a. Species variations in the fixation and transfer of nitrogen from legumes to associated grasses. *Plant and Soil* 98: 265-274.

TA, T.C. y M.A. FARIS. 1987b. Effects of alfalfa proportion and clipping frequencies on timothy-alfalfa mixtures. II. Nitrogen fixation and transfer. *Agronomy Journal* 79: 820-824.

TA, T.C.; F.D.H. MACDONALD y M.A. FARIS. 1986. Excretion of assimilated nitrogen from N_2 fixed by nodulated roots of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Canadian Journal of Botany* 64: 2063-2067.

VAN KESSEL, C., P.W. SINGLETON y H.J. HOBEN. 1985. Enhanced N transfer from a soybean to maize by vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungi. *Plant Physiology* 79: 562-563.

WHITTINGHAM, J. y D.J. READ. 1982. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in natural vegetation systems. III. Nutrient transfer between plants with mycorrhizal interconnections. *New Phytologist* 90: 277-284.