

Universidad de Costa Rica
Facultad de Ciencias
Escuela de Biología

Estudio de la asociación micorrízica vesículo-
arbuscular-Rhizobium en Phaseolus vulgaris L.
(Frijol común)

Tesis presentada para optar al grado de
Licenciada en Biología

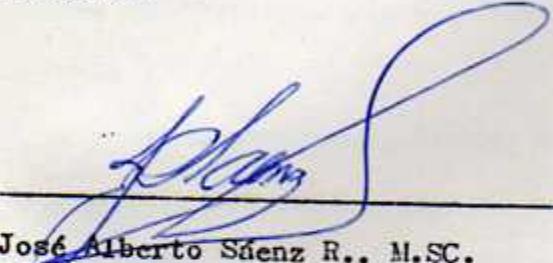
Carmen Ida Infante Meléndez

1985

Estudio de la asociación micorrizica vesículo-
arbuscular Rhizobium en Phaseolus vulgaris L.

(Frijol común)

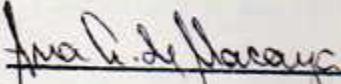
APROBADA



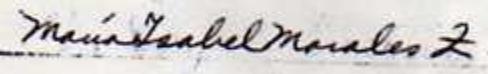
Director de Tesis
José Alberto Sáenz R., M.SC.



Miembro del Tribunal de Tesis
María E. Barahona de Castillo., Lic.



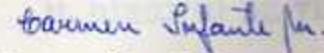
Miembro del Tribunal de Tesis
Ana V. Lizano de Macaya., Dra.



Miembro del Tribunal de Tesis
María Isabel Morales Z., M.SC.



Miembro del Tribunal de Tesis
Maryssia Nassar C., Lic.


Carmen Ida Infante Meléndez

Sustentante

DEDICATORIA

Me da sincera agradecimiento al Director de tesis, Don José Alberto Sáenz Rendón, por su valiosa colaboración en la planificación, orientación, dirección y revisión del presente trabajo.

Al personal del Centro de Investigaciones Agrícolas (CIA) y personal del Laboratorio de Suelos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Costa Rica por todas sus servidumbres prestadas.

A los Señores Profesores miembros del comité asesor, por su cooperación en el mejoramiento y corrección del trabajo.

Finalmente mi gratitud para todas aquellas personas que de una u otra manera hicieron posible la realización del presente trabajo.

A MIS PADRES

AL DIRECTOR DE TESIS

AGRADECIMIENTO

Mi más sincero agradecimiento al Director de tesis, Don José Alberto Sáenz Renaud, por su valiosa colaboración en la planificación, orientación, dirección y revisión del presente trabajo.

CONTENIDO..... 111

LISTA I Al personal del Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA) y personal del Laboratorio de Suelos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Costa Rica por todos sus servicios prestados.

REVISIÓN DE LITERATURA..... 1

MATERIA A los Señores Profesores miembros del comité consejero, por su cooperación en el mejoramiento y corrección del trabajo.

DISCUSIÓN..... 23

CONCLUSIÓN Finalmente mi gratitud para todas aquellas personas que de una u otra manera hicieron posible la realización del presente trabajo.

RESUMEN..... 27

LITERATURA CITADA..... 31

APÉNDICE..... 33

CONTENIDO

	PAGINA
DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO.....	ii
CONTENIDO.....	iii
LISTA DE CUADROS.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	vii
INTRODUCCION.....	1
REVISION DE LITERATURA.....	3
MATERIALES Y METODOS.....	15
RESULTADOS.....	21
DISCUSION.....	27
CONCLUSIONES.....	33
RECOMENDACIONES.....	34
RESUMEN.....	35
LITERATURA CITADA.....	37
APENDICE.....	52

CUADRO	PAGINA
11	Diferencia entre medias de tratamientos (Prueba de Duncan) con relación al peso seco radical..... 52
12	Prueba estadística de T. de Student, con relación al peso seco radical..... 52
LISTA DE CUADROS	
13	Análisis de varianzas con respecto al contenido de fibra a nivel de planta..... 54
CUADRO	PAGINA
1	Propiedades químicas del suelo utilizado..... 53
2	Propiedades físicas del suelo utilizado..... 53
3	Altura semanal en centímetros en los diferentes tratamientos 54
4	Análisis de varianzas, con relación a la altura de las plantas..... 55
5	Diferencia entre medias de tratamientos (Prueba de Duncan), con relación a la altura de las plantas..... 56
6	Prueba estadística de T. de Student respecto a la altura en centímetros..... 56
7	Análisis de varianzas, con respecto al peso seco foliar de las plantas..... 58
8	Diferencia entre medias de tratamientos (Prueba de Duncan) con relación al peso seco foliar..... 59
9	Prueba estadística de T. de Student, con respecto al peso seco foliar en gramos..... 59
10	Análisis de varianzas, con relación al peso seco radical..... 61

CUADRO	PAGINA
11	Diferencia entre medias de tratamientos (Prueba de Duncan) con relación al peso seco radical..... 62
12	Prueba estadística de T. de Student, con relación al peso seco radical en gramos..... 62
13	Análisis de varianza con respecto al contenido de fósforo a nivel de planta..... 64
14	Diferencia entre medias de tratamientos (Prueba de Duncan), con relación al contenido de fósforo a nivel de planta..... 65
15	Prueba estadística de T. de Student, con relación al contenido de fósforo a nivel de planta..... 65
16	Análisis de varianza, con respecto al contenido de nitrógeno a nivel de planta..... 67
17	Diferencia entre medias de tratamientos (Prueba de Duncan), con relación al contenido de nitrógeno a nivel de planta..... 68
18	Prueba estadística de T. de Student, con respecto al contenido de nitrógeno a nivel de planta..... 68
19	Análisis de varianza para evaluar la acción bacterial en tres tratamientos, con respecto al número de nódulos bacterianos..... 70
20	Diferencia entre medias de tratamientos (Prueba de Duncan), con respecto al número de nódulos bacterianos..... 71
21	Análisis de varianza para evaluar la acción bacterial,

CUADRO	PAGINA
con respecto al peso de los nódulos bacterianos.....	73
22 Diferencia entre medias de tratamientos (Prueba de Duncan), con respecto al peso de los nódulos bacterianos.....	74

FIGURA	PAGINA
1 Altura semanal de las plantas, por el período de 10 semanas.....	51
2 Procedo del peso seco (gramos) de la parte aérea de las plantas de frijol en cada tratamiento, a los 10 semanas.....	50
3 Procedo del peso seco (gramos) de la raíz de las plantas de frijol en cada tratamiento, a los 10 semanas.....	51
4 Procedo del contenido de nitrógeno de la planta (en %) al momento de cosecharla.....	54
5 Procedo del contenido de nitrógeno de la planta (en %) al momento de cosecharla.....	59
6 Procedo del contenido de nitrógeno (en %) de la parte aérea de las plantas.....	72
7 Procedo del peso seco (gramos) de los nódulos bacterianos, a los 10 semanas.....	75

INTRODUCCION
LISTA DE FIGURAS

FIGURA		PAGINA
1	Altura semanal de las plantas, por un período de 10 semanas.....	57
2	Promedio del peso seco (gramos) de la parte aérea de las plantas de frijol en cada tratamiento, a las 10 semanas.....	60
3	Promedio del peso seco (gramos) a nivel de raíz de las plantas de frijol en cada tratamiento, a las 10 semanas.....	63
4	Promedio del contenido de fósforo a nivel de planta (miligramos) al transcurrir 10 semanas.....	66
5	Promedio del contenido de nitrógeno a nivel de planta (miligramos), al transcurrir 10 semanas.....	69
6	Promedio del número de nódulos bacterianos (unidades), a las 10 semanas.....	72
7	Promedio del peso seco (gramos) de los nódulos bacterianos, a las 10 semanas.....	75

INTRODUCCION

La planta de frijol común (Phaseolus vulgaris, L) posee un origen incierto. De acuerdo con Sáenz, (1962) De Candolle indica que la planta es originaria del Viejo Mundo, mientras que Stutevant y otros opinan que es natural de América, desde donde los frijoles se distribuyeron por todo el mundo.

El mismo autor indica que el origen americano del frijol se cita en descripciones bastante antiguas, que datan del año 1500, informando Fernández de Oviedo en su Historia General y Natural de las Indias acerca de una simiente que los indios cultivaban y llamaban fésoles, especialmente en Nicaragua.

No cabe duda que desde tiempos antiguos el frijol ha sido considerado como alimento por su alto contenido nutritivo, pues es rico en proteínas, vitaminas (especialmente A y D) y elementos tales como calcio y fósforo (Erdman, 1948).

En nuestro país constituye uno de los alimentos básicos en la dieta del costarricense, pero, a pesar de esto, los rendimientos del cultivo del frijol en Costa Rica no han mejorado en los últimos años (Guadamuz, 1980).

Según Jiménez, 1978 son varios los factores que impiden satis-

facen la demanda de este grano; entre ellos, se pueden citar la dependencia casi exclusiva de un sistema de cultivo de subsistencia y de muy bajo nivel tecnológico como es el frijol tapado; la utilización de semilla de baja calidad; inadecuado combate de plagas y enfermedades y la ubicación de las áreas de cultivo o de siembra del frijol en zonas poco desarrolladas del país.

Con miras a estudiar las posibilidades de incrementar la productividad del cultivo del frijol dentro del campo biológico, con la intención o finalidad primordial de inducir las asociaciones simbióticas de microorganismos de tipo bacteriana y fúngica en el frijol, es que se estructuró la presente investigación.

En el mundo, se fue hasta 1973, cuando el botánico alemán Frank estableció la teoría de simbiosis mutualística existente entre las raíces de algunas plantas del género leguminosa, a la cual denominó "micorrizas".

En estos últimos años se ha observado el estudio de algunas de estas leguminosas micorrizadas, que establecen las raíces de plantas. Se ha hecho una distinción, en base a su estructura y morfología, en dos grandes grupos: ectomicorrizas y endomicorrizas. Las primeras incluyen micorrizas arbusculares y ectomicorrizas de tipo arbuscular, formando un retículo de hifas en las raíces. El desarrollo del hongo en el interior de la célula es intracelular, siendo el tipo de micorrizas (Kollon, 1970; Gerdemann, 1968; Haynes, 1966).

Hoy en día se sabe que las leguminosas micorrizadas de endomicorrizas

REVISION DE LITERATURA

Unger en 1840 observa por primera vez la presencia de hongos en las raíces de las plantas, sin denotar una aparente enfermedad o necrosis.

Sin embargo, no fue hasta 1885, cuando el botánico alemán Frank estableció la teoría de simbiosis mutualística existente entre las raíces de algunas plantas con ciertos hongos; a la cual denominó "micorrizas".

En estos últimos años se ha enfatizado el estudio de algunos de estos hongos micorrízicos, que colonizan las raíces de plantas. Se ha hecho una distinción, en base a su estructura y morfología, en dos grandes grupos: ectomicorrizas y endomicorrizas. Las primeras incluyen micorrizas en las cuales el hongo, normalmente de micelio tabicado, forma un auténtico manto de hifas que rodea la raíz. El desarrollo del hongo en el interior de la corteza es intercelular, dando aspecto de retículo (retículo de Hartig). En las endomicorrizas el hongo no forma manto alguno sobre la raíz y las hifas penetran en el interior de las células de la corteza (Kelley, 1950; Gerdemann, 1968; Hayman, 1980).

Hoy en día se sabe que los hongos formadores de endomicorrizas

están muy distanciados taxonómica y fisiológicamente, por lo que ha sido necesario subdividir las en grupos (Gallaud, 1905).

Sin lugar a dudas las de más amplia distribución son las de tipo vesículo-arbuscular (V.A.), ya que se manifiestan en todos los climas que permiten el desarrollo vegetal sobre el planeta (Gerdemann, 1968).

Se han localizado micorrizas vesículo-arbusculares en todos los continentes salvo en la Antártida, hallándose en plantas que pertenecen a la familia de las angiospermas, gimnospermas, algunos pteridófitos y briófitos (Gallaud, 1905; Nicholas, 1932; Burgeff, 1938; Azcón y Barea, 1980).

Mientras que sólo un 3% aproximadamente de las plantas con flor poseen la capacidad de formar micorrizas del tipo ectomicorrizas, la gran mayoría de las especies restantes poseen micorrizas del tipo vesículo-arbusculares (Azcón y Barea, 1980).

Los estudios realizados en las distintas familias que conforman el reino vegetal parecen indicar que los siguientes grupos de plantas no poseen la capacidad de formar las micorrizas de tipo vesículo-arbusculares en condiciones normales de cultivo.

a-Pinaceae, Betulaceae y Fagaceae (forman micorrizas con manto).

b-Orchidaceae y Ericaceae (forman sus tipos específicos de micorrizas).

c-Ciertas familias han sido descritas como no micorrizables, tales como: Chenopodiaceae, Cruciferae, Fumariaceae, Commelinaceae, Urticaceae, Polygonaceae, Helobiae, Plumbaginae, Centrospermae, Farinosae y algunas familias de plantas que crecen en suelos pantanosos como Droseraceae, Oenotheraceae y Halorrhagaceae. No obstante pueden ser micorrizables en condiciones de cultivo especial.

d-Existen también ciertos grupos de plantas que tienen tanto la capacidad de formar ectomicorrizas como la de establecer las de tipo vesículo-arbuscular tal es el caso de Salicaceae, Juglandaceae, Tiliaceae, Mirtaceae, Caesalpinaceae, Juniperus, Chamaecyparis y Quercus (Harley y Lewis, 1969; Meyer, 1974; Azcón y Barea, 1980).

La ausencia de manto o de micelio externo en las endomicorrizas dificultó el reconocimiento de las micorrizas vesículo-arbusculares, sin embargo, con técnicas de clarificación y tinción se ha podido estudiar con detalle su morfología a través del examen microscópico. En contraste con lo que sucede con las ectomicorrizas en las raíces de las plantas, las de tipo vesículo-arbuscular originan pocos cambios morfológicos en la raíz (Phillips y Hayman, 1970; Meyer, 1974).

La micorrización vesículo-arbuscular se desarrolla a partir de las clamidósporas, azigósporas o zigósporas (esporas de resistencia) las cuales son producidas individualmente en el suelo o en esporocarpos hipógeos (raramente epígeos) o bien a partir de micelio originado en una raíz previamente infectada (Rhodes y Gerdemann, 1980).

Las esporas resisten condiciones adversas en el suelo, tales como el calor y la sequía, germinando cuando las condiciones favorables se presenten. El tubo germinativo crece a través del suelo y puede eventualmente hacer contacto con las raíces de un hospedero apropiado (Azcón y Barea, 1980; Rhodes y Gerdemann, 1980).

El punto inicial de penetración se origina en la epidermis, en forma directa o formando un apresorio o haustorio (Bushnell, 1972); presumiblemente existen enzimas involucradas en este proceso de penetra-

ción, esto es sugerido por la granulación de la pared del punto de penetración (Akai et al., 1971).

A continuación la hifa invasora se ramifica intercelularmente o intracelularmente en forma rápida, en la corteza de la raíz sin invadir la endodermis, células pigmentadas ni células meristemáticas (Harley y Wilson, 1959; Rhodes y Gerdemann, 1980).

El citoplasma de la hifa fungal contiene los componentes normales tales como mitocondrias, núcleos y cuerpos de aceite no vacuolados. Las células del hospedero reaccionan ante la invasión incrementando su citoplasma y acumulando gran cantidad de orgánulos tales como mitocondrias, dictiosomas y retículo endoplasmático en la vecindad del hongo (Dörr y Kollmann, 1969; Cox et al., 1975). Las vacuolas también son más pequeñas y más numerosas (Kinden y Brown, 1976).

Los núcleos de la célula invadida se hacen más grandes y se aproximan a la hifa invasora. Esto podría indicar una interacción entre los orgánulos de las células del hospedero y las hifas del hongo, formando parte de la interfase huésped-hongo (Kaspari, 1975; Holley y Peterson, 1979).

Poco tiempo después de iniciada la infección se desarrollan las arbusculas formándose de hifas tanto inter como intracelulares, las cuales se ramifican dicotómicamente, en donde sus ramas son cada vez más pequeñas, al final se producen ramificaciones más cortas y abundantes de ahí el nombre de arbusculas (Gallaud, 1905; Nicolson, 1975; Holley y Peterson, 1979; Cox et al., 1980).

Cuando se forman las arbusculas, el almidón de la célula invadida desaparece (Jansen, 1896; Gallaud, 1905; Kinden y Brown, 1975; Nicolson,

1975; Holley y Peterson, 1979; Cox et al., 1980; Azcón y Barea, 1980).

Las arbusculas se localizan en las hifas en diferentes estados de desarrollo previendo una súbita degeneración de la arbuscula entera. Las arbusculas permanecen intactas por un breve período. Un promedio de cuatro días (Cox y Tinker, 1976) o de cuatro a quince (Bevege y Bowen, 1975) han sido calculados para el proceso que incluye la formación de arbusculas a la completa desintegración de éstas.

No se conoce si la descomposición de las arbusculas es estrictamente un proceso autolítico o si la digestión por el hospedante esta involucrada. El proceso empieza con un deterioro del citoplasma en la hifa arbuscular seguida por un colapsamiento de las paredes hifales de las extremidades de las ramas arbusculares individuales (Cox y Sanders, 1974; Kinden y Brown, 1976).

Esto puede ocurrir solamente en una región de la arbuscula al principio, pero continúa hasta la arbuscula entera con la excepción del tronco principal. Los remanentes de las arbusculas son vistos como "grumus" globulares de material fúngico dentro de las células (Kaspari, 1975; Holley y Peterson, 1979; Azcón y Barea, 1980).

El microscopio electrónico revela que estos remanentes son usualmente encapsulados en una materia amorfa, presumiblemente originada del hospedante y rodeada por la membrana celular del mismo, es decir en una vacuola (Cox y Sanders, 1974; Kinden y Brown, 1976).

Después del deterioro de las arbusculas, el núcleo de la célula hospedante retorna a su tamaño normal y el almidón puede reaparecer (Gallaud, 1905).

Las vesículas son protuberancias hifales, globosas o elipsoides

que pueden aparecer en posición tanto inter como intracelularmente. Ellas usualmente se forman en el extremo, pero pueden estar intercaladas (Jansen, 1896). Su tamaño varía, pero pueden llegar a ocupar todo el espacio disponible de la célula hospedera (Nicolson y Johnston, 1979). Estas contienen material linoide y usualmente se asume que estos órganos realizan una función de almacenamiento para el hongo endófito. Si las vesículas llegan a ser de pared gruesa, se asemejan a las clamidósporas (Jansen, 1896; Azcón y Barea, 1980).

El desarrollo de la infección en el interior de la corteza está acompañado por un crecimiento exterior de las hifas, estableciéndose posteriores puntos de penetración. Las hifas que emergen de la raíz se extienden por los poros del suelo, formando un retículo flojo de micelio externo, que amplía el sistema de absorción de nutrientes en la planta. De este micelio se originan grandes esporas vegetativas que maduran hasta convertirse en clamidósporas (Nicolson, 1959; Cox y Sanders, 1974).

Determinadas especies también poseen la capacidad de desarrollar esporocarpos (Gerdemann, 1965).

El parecido anatómico de las infecciones vesículo-arbusculares hizo pensar que la mayoría de ellas eran producidas por el mismo hongo. Gracias a los estudios que se han realizado se ha establecido que los hongos vesículo-arbusculares pertenecen a la familia Endogonaceae, en un principio se ubicó a todos los hongos formadores de esta asociación en el género Endogone, pero gracias a Gerdemann y Trappe, en 1974 se hizo una nueva revisión de la familia estableciéndose cuatro géneros: Gigaspora, Acaulospora, Glomus y Sclerocystis.

Estos hongos tienen un espectro de hospederos extremadamente amplio, lo que obliga a catalogarlos como inespecíficos, pero se registran notables diferencias en el grado de susceptibilidad del hospedero y en la adaptabilidad del hongo a determinadas condiciones. Se han hecho bastantes estudios en éste aspecto que indican que existen una serie de factores que afectan el desarrollo, la reproducción y los efectos de las micorrizas vesículo-arbusculares (Mosse, 1973; Rhodes y Gerdemann, 1980).

Algunos de estos factores son: la especie de la planta hospedera (Mosse, 1973); la especie del hongo micorrízico; el pH del suelo (Mosse, 1972 a,b); composición del suelo (Hayman y Mosse, 1972; Mosse, 1972 a,b); el fósforo disponible (Hayman y Mosse, 1972); la temperatura (Furlan y Fortin, 1973; Hayman, 1974; Schenck y Schroder, 1974) y la intensidad de la luz (Hayman, 1974).

La capacidad de micorrización de un suelo está determinada por la cantidad de inóculo presente, el tipo, viabilidad y densidad de éste, que va a estar directamente ligado a las condiciones ambientales (Hall, 1976; Ferguson, 1981; Manjunath y Bagyaraj, 1981; Daniels y Skipper, 1982).

Las micorrizas vesículo-arbusculares originadas por especies de la familia Endogonaceae pueden mejorar satisfactoriamente el crecimiento, desarrollo y nutrición de las plantas hospederas, especialmente en suelos en donde la cantidad de fósforo y otros elementos esenciales son un factor limitante (Nicolson, 1967; Gerdemann, 1968; Harley, 1969).

Los estudios llevados a cabo han puesto de manifiesto que el papel de las micorrizas vesículo-arbusculares es bastante significativo con respecto a la toma de fósforo por el hospedero (Baylis, 1967; Daft y Nicolson, 1969).

La razón de esto es que la mayor parte de los suelos naturales tienen

un bajo contenido en fósforo asimilable, e incluso la mayoría de los suelos arables de uso agrícola necesitan un aporte considerable de fertilizante fosforado para mantener una productividad adecuada. En efecto el 95-99% del fósforo de un suelo está integrado por compuestos orgánicos e inorgánicos insolubles (Reisenauer, 1966; Gerdemann, 1968; Ruehle y Marx, 1979)

Se conoce también que el ritmo de absorción de los iones fosfato por la planta es superior al desplazamiento de dichos iones desde el suelo no rizosférico hacia la raíz. Esto condiciona la formación de una zona desprovista del elemento en la rizosfera (Vasey y Barker, 1963; Lewis y Harley, 1965; Sanders y Tinker, 1971; Bhat y Nye, 1974).

Los hongos endomicorrízicos compensan esa deficiencia, incrementando la toma de fosfato, como resultado de un aumento en el área de absorción por contribución de sus hifas (Hattingh et al., 1973; Pearson y Tinker, 1975), originándose una mayor capacidad de contacto; al existir mayor número de sitios o puntos de absorción lo que significa una mayor capacidad para tomar y transferir elementos minerales (Cress et al., 1979).

Estudios con isótopos radiactivos en la nutrición de las plantas confirman que el nitrógeno, potasio, calcio, azufre, zinc, cobre, estroncio y principalmente fósforo, son absorbidos del suelo por los hongos micorrízicos y trasladados a la planta hospedera (Bowen, 1973; Gray y Gerdemann, 1973; Jackson et al., 1973; Sanders et al., 1975; Cooper y Tinker, 1978; Rhodes y Gerdemann, 1978).

Para explicar el mecanismo de absorción y traslado de fósforo del micobionte hacia al hospedero, se ha puesto de manifiesto mediante la radioautografía la existencia de gránulos de polifosfato en las vacuolas de las hifas intra e intercelulares; estas últimas forman en la zona cor-

tical vesículas o arbusculas. Los gránulos de fosfato vacuolares son descompuestos hacia formas que a su vez son utilizadas por el hospedante. La desintegración de vesículas y arbusculas está directamente relacionada con la utilización de estos polifosfatos (Cox et al., 1975; Ling-Lee et al., 1975; Pearson y Tinker, 1975).

Estudios realizados han indicado que el hongo micorrízico no es sólo estructuralmente eficiente en la movilización de nutrientes del suelo, sino que también producen enzimas exógenas como fosfatasa y nitrato reductasas, las cuales son importantes en el metabolismo de los nutrientes (Theodorou, 1968; Ho y Trappe, 1975; Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi, 1978).

Recientes trabajos en la secreción de ácidos orgánicos por los hongos micorrízicos (Graustein et al., 1977; Cromack et al., 1979), han abierto nuevas posibilidades para comprender su particular efectividad en la extracción de nutrientes del suelo.

El grado de micorrización está relacionado por tanto con la cantidad de fósforo disponible en el medio de crecimiento (Daft y Nicolson, 1969; Mosse, 1973; Sanders y Tinker, 1973).

Altas concentraciones de fósforo en el suelo inhiben la formación de la micorriza (Sanders et al., 1975; Ratnayake et al., 1978).

El mecanismo bioquímico por el cual el fósforo actúa inhibiendo la infección micorrízica es aún desconocido. Sin embargo, recientes evidencias, indican la presencia de una fosfatasa alcalina micorrízica, específica, que tiene una actividad óptima, coincidente con el período más activo de la infección micorrízica (Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi, 1976, 1978). Se ha sugerido que esta fosfatasa alcalina puede estar involucrada

en el establecimiento de la infección micorrizica, siendo ésta reprimida en presencia de fósforo. Existiendo así, un mecanismo por el cual la infección micorrizica puede ser suprimida por una alta concentración de fósforo en el suelo y, por ende un aumento en la concentración de fósforo en los tejidos radicales (Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi, 1976, 1978).

Muy poca atención ha sido dada al efecto del fósforo sobre el desarrollo del micelio externo, aunque existe una estrecha correlación entre éste y el desarrollo del hongo en la corteza radical (Nicolson, 1959, 1967; Sanders y Tinker, 1973; Sanders *et al.*, 1977).

Así, niveles de fósforo que reducen el micelio interno probablemente también causan una reducción correspondiente del micelio externo. Tal reducción de las hifas en el suelo es probablemente de poca consecuencia en relación con el fósforo obtenido por la planta, además es, en realidad, el alto nivel de fósforo en el tejido de la planta que hace que la infección sea suprimida. Si, además del fósforo las hifas externas actúan en la transferencia de otros nutrientes, la reducción de la simbiosis podría ser de importancia en la disminución de la captación de otros iones esenciales (Rhodes y Gerdemann, 1980).

Usualmente se asume que, el sitio de liberación de nutrientes desde el hongo al hospedante micorrizado, es en las arbusculas. Hubo dos razones para esta suposición: 1-Las ramas arbusculares aumentan grandemente el área de superficie de contacto entre el hospedante y el hongo, proporcionando más área de superficie para el intercambio de nutrientes; 2-Se observó que las arbusculas se descomponían dentro de las células hospederas, indicando la digestión de la arbuscula o autólisis dentro de

las células del hospedante. Cualquiera de los procesos resultantes tiene como finalidad la liberación del contenido hifal hacia la célula hospedera (Rhodes y Gerdemann, 1980).

Microanálisis con rayos X, han indicado que el citoplasma de las células que contienen arbusculas, poseen mayores concentraciones de fósforo que las células corticales adyacentes carentes de ellas. También, las ramas arbusculares contienen mayores concentraciones de fósforo que el citoplasma hospedero que las rodean (Shooknecht y Hattingh, 1976).

Micrografías electrónicas mostraron una ausencia de gránulos de polifosfatos en los extremos de las ramas arbusculares, aunque estos estaban presentes por todo el resto del micelio, indicando esto una posible descarga de polifosfato desde las ramas arbusculares (Cox et al., 1975).

Puesto que los endófitos micorrízicos vesículo-arbusculares son simbioses obligados, se ha asumido generalmente que ellos obtienen nutrientes orgánicos esenciales de sus hospederos, y por tanto debe ocurrir transferencia de compuestos carbonados desde el hospedante hacia el hongo. La forma en la cual el carbono es transferido desde el hospedante al endófito es desconocida (Meyer, 1966; Harley, 1969; Harley y Lewis, 1969; Smith et al., 1969; Lewis, 1970, 1973, 1974; Hacskaylo, 1973; Smith, 1974).

Varios autores, han reportado el papel de los hongos endomicorrízicos, en el crecimiento de plantas de interés agrícola e industrial en sitios inhóspitos tales como en minas de carbón y cobre abandonadas, lotes baldíos y en localidades dañadas por la erosión y de baja fertilidad

(Baylis, 1975; Rhodes, 1980).

El estudio de las micorrizas vesículo-arbusculares se ha orientado hacia plantas de interés agrícola e industrial como: cultivos de uvas (Possingham, 1971; Deal et al., 1972); maíz (Gerdemann, 1964); tomate (Daft y Nicolson, 1966); frijol (Killana y Schenck, 1970; Ross y Harper, 1970; Ross, 1971; Schenck y Hinson, 1971; Holley y Peterson, 1979); cítricos (Marx et al., 1971; Craw y Schenck, 1980; Menge et al., 1981); cebolla (Furlan y Fortin, 1973; Mosse, 1973; Hayman, 1974); melocotones (LaRue et al., 1975); papas (Black y Tinker, 1977); cebada (Saif y Khan, 1977; manzanas (Plenchette et al., 1981); algodón (Pugh et al., 1981); cereales (Khan, 1972, 1975) y también árboles forestales como arce (Medve, 1971; Kessler y Blank, 1972) y álamo amarillo (Clark, 1963).

Tomando en cuenta que la mayoría de las raíces de las leguminosas, caso concreto de Phaseolus vulgaris, L (frijol común), forman asociaciones con bacterias del género Rhizobium sp para aprovechar el nitrógeno elemental del medio que, no es asimilable directamente por la planta (Alexander, 1977) y, demostrándose también que Phaseolus tiene la capacidad de formar micorrizas vesículo-arbusculares (Killana y Schenck, 1970; Ross y Harper, 1970; Ross, 1971; Schenck y Hinson, 1971; Holley y Peterson, 1979). Algunos autores (Van Schreven, 1958; Ross y Harper, 1970; Crush, 1974; Carling et al., 1978; Brill, 1981) han tratado de establecer si las leguminosas noduladas y micorrizadas presentan, como elemento simbiótico, uno de los mecanismos más complejos e interesantes de acción biológica, para mejorar su productividad especialmente en suelos pobres.

MATERIALES Y METODOS

El experimento se llevó a cabo en los invernaderos de la Escuela de Biología de la Universidad de Costa Rica, en donde se efectuaron seis diferentes tratamientos en plántulas de Phaseolus vulgaris L. (frijol común).

Preparación del sustrato:

El suelo se colectó en Villa Colón, fue analizado químicamente en el laboratorio de suelos del Ministerio de Agricultura y Ganadería y físicamente en el laboratorio de suelos de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Costa Rica. Las características químicas y físicas del suelo se indican en el apéndice, en los cuadros 1 y 2 respectivamente.

Se esterilizó el suelo en autoclave a 15 libras de presión y a 125°C durante una hora. Posteriormente se colocó en el invernadero en una cama de cemento, formando una especie de pirámide. En el centro de la misma se colocó una lata de bromuro de metilo, se tapó con un plástico todo el sustrato, logrando así un sistema hermético. Con una varilla con un clavo en el extremo se perforó la lata para lograr el escape y la difusión del gas, esto se dejó por un período de 24 horas. Pos-

teriormente se levantó el plástico y se dejó airear la tierra durante cuatro días, antes de montar el experimento.

Se empacó el sustrato en bolsas de polietileno negras, de dimensiones de 23X23 cm con pequeños agujeros, previamente esterilizadas con alcohol de 95°. La cantidad de sustrato por bolsa correspondió a 2.100 gramos.

Obtención de las plántulas:

Se utilizó semillas de Phaseolus vulgaris L. var. mexico, seleccionadas previamente en cuanto a forma y tamaño para asegurar su uniformidad.

Las semillas se esterilizaron de la siguiente manera: se lavaron con alcohol de 95° por 3 minutos, luego con agua destilada estéril, posteriormente se colocaron en una solución de hipoclorito de sodio por 3 minutos y se lavaron con agua destilada estéril. Una vez esterilizadas se dejaron en imbibición por 24 horas después de lo cual se pusieron a pregerminar por 2 días en placas de petri estériles con medio agar-agua al 1% previamente autoclavado, hasta que las raicillas midieron más o menos 1 centímetro.

Muestras:

Cada uno de los tratamientos estuvo constituido por 15 plántulas, una por bolsa, y a la hora de obtener los diferentes datos se evaluaron aquellas 10 que presentaron una mayor uniformidad.

Tratamientos:

Los tratamientos a realizar fueron los siguientes:

- FR: plantas de frijol con Rhizobium
- FM: plantas de frijol con un hongo micorrízico
- FRM: plantas de frijol con Rhizobium y un hongo micorrízico
- F: plantas de frijol sin inóculo-testigo-
- FA: plantas de frijol sin inóculo pero con abono químico
- FSE: plantas de frijol en suelo sin esterilizar

Preparación de los inóculos

Inóculo micorrízico:

Previamente al establecimiento de los tratamientos de FM y FRM se colectó Emilia fosbergii Nicolson (mala hierba) de un lote baldío en las inmediaciones de la Universidad de Costa Rica, cuyas raíces presentaron abundante asociación micorrízica, la cual fue comprobada por el método de tinción de Phillips y Hayman 1970, en donde las raíces son expuestas durante 30-60 minutos en una solución al 10% de KOH en baño maría a 90°C y coloreadas por 5 minutos en 0.05% de tripano azul en lactofenol claro.

Las raicillas seleccionadas como inóculo se esterilizaron con peróxido de hidrógeno al 0.5% durante 3 minutos, lavadas con agua estéril y seccionadas en pequeños fragmentos.

Del suelo circundante a las raíces de esta planta se extrajeron las esporas del hongo micorrízico por el método de decantado o filtrado (Gerdemann y Nicolson, 1963; Mosse y Jones, 1968; Ohms, 1957), en el cual

el suelo colectado es suspendido en 1000 ml de agua destilada y pasado a través de una gasa para separar las partículas grandes, posteriormente el filtrado se deja sedimentar por 30 minutos, pasándose la suspensión por una criba fina, recogiendo luego las esporas en un papel de filtro. Estas fueron posteriormente seleccionadas, lavadas y esterilizadas con hipoclorito de sodio al 0.1% aproximadamente por tres minutos.

Tanto las raicillas como las esporas conformaron la fuente de inóculo micorrizante.

Inóculo bacterial:

La cepa que se utilizó para los tratamientos de FR y FRM fue preparada y obtenida en el Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA). Esta pertenece a la especie Rhizobium phaseoli var. mexico.

Preparación del abono:

Para el tratamiento del frijol abonado (FA) se utilizó como fuente de nitrógeno y fósforo $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ y K_2SO_4 para suplir a las plantas de potasio.

Se preparó una solución de 3,45 g de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ y 1,24 g de K_2SO_4 en 225 ml de agua estéril.

Preparación de los diferentes tratamientos:

-FR: Las semillas germinadas se sembraron en el suelo preparado a 1 cm de profundidad y con una pipeta estéril se les adicionó, en su contorno, 1 ml del inóculo bacterial suspendido en una solución salina (Na Cl 0.85%).

- FM: A las bolsas que correspondían a este tratamiento, se les extrajo, en cada caso, una capa de sustrato de aproximadamente 2 cm de grosor; se colocó en el centro de la bolsa un pequeño círculo de papel de filtro, esterilizado con rayos ultra violeta, al que se le adicionó 1 g de raicillas micorrizadas de Emilia fosbergü Nicolson y 10 esporas del micobionte. Esto se cubrió con una capa de un centímetro del sustrato extraído. Colocándose la semilla de tal forma que su radícula quedara en contacto con el papel de filtro, por último se cubrió con el suelo restante.
- FRM: Se siguió el mismo procedimiento que en los tratamientos de FM y FR.
- F: Este correspondió al testigo, al que no se le adicionó ningún tipo de inóculo o abono. Simplemente se sembraron las plántulas en el sustrato estéril.
- FA: Las plántulas se sembraron en la bolsa correspondiente al suelo estéril y se dejó pasar 6 días con el fin de que adquirieran un tamaño adecuado y se adaptaran al nuevo sustrato. Se adicionó con una pipeta estéril, 15 ml de la solución del abono por planta.
- FSE: Las plántulas fueron sembradas en un sustrato sin esterilizar, es decir en sus condiciones naturales.

Riego:

Se hizo cada dos días, debido a que el suelo retenía mucha humedad y se le adicionó a cada plántula 100 ml de agua, con ayuda de un recipiente agujerado con el propósito de no maltratar las plántulas.

Variables evaluadas:

Las siguientes variables se utilizaron para determinar el comportamiento de los diferentes tratamientos:

- 1-Altura: Cada semana se tomaron los datos de altura en cm de cada una de las plantas en los diferentes tratamientos.
- 2-Peso seco foliar y radical: Dos meses y medio después de haber montado el experimento, se evaluaron estos parámetros. Para esta determinación se secaron las muestras separadamente en una estufa a 65°C hasta alcanzar un peso constante y posteriormente se pesaron.
- 3-Contenido de fósforo: Se determinó a nivel de planta, según el método colorimétrico (Briceño et al., 1984).
- 4-Contenido de Nitrógeno: Se determinó a nivel de planta, según el método de Kjeldhal (Muller, 1961).
- 5-Micorrización: Determinación de la presencia o ausencia de la asociación micorrízica, por el método de tinción de Phillips y Hayman (1970).
- 6-Determinación del micobionte: Se determinó tentativamente el género y la especie de las esporas y micelio empleados como inóculo micorrízico.
- 7-Número y peso seco de los nódulos bacterianos: Se determinaron estos parámetros removiendo los nódulos de los sistemas radicales, contándolos y secándolos a 65°C hasta lograr un peso constante, para pesarlos posteriormente.

RESULTADOS

El resultado del análisis químico y físico del suelo se indica en el apéndice en los cuadros 1 y 2 respectivamente.

Los resultados de los diferentes parámetros evaluados son los siguientes:

Altura de las plantas: Del estudio del cuadro 3 se deduce que hubo un incremento notable en la altura de la parte aérea de las plantas de frijol, en el tratamiento en condiciones estériles, al cual se le adicionó abono (FA), con respecto al resto de los tratamientos.

El cuadro 4 presenta el análisis de varianza que indica la existencia de una diferencia altamente significativa (1%) con respecto a la altura de las plantas en los diferentes tratamientos.

Parte de esta diferencia corresponde a la diferencia significativa (1%) entre el frijol abonado y el resto de tratamientos, según la prueba de Duncan, cuadro 5.

Aplicando la prueba de T de Student que permite comparar el resto de tratamientos entre sí, se determina claramente en el cuadro 6 que el tratamiento con inóculo micorrízico (FM) muestra diferencia significativa (1%) con respecto a los siguientes tratamientos: frijol Rhizobium-

Micorriza(FRM); frijol Rhizobium(FM); frijol sin esterilizar(FSE); frijol-testigo-(F) y frijol abonado(FA).

A la vez, con este mismo cuadro se puede concluir que no existió ninguna diferencia significativa entre el resto de los tratamientos, es decir que el incremento en la altura de las plantas fue muy uniforme. Estas conclusiones se reafirman al observar la figura 1 (ver apéndice) que muestra el incremento semanal de las plantas al transcurrir un período de 10 semanas, después de haber montado el experimento.

Peso seco foliar: En el cuadro 7 se puede observar que el análisis de varianza, para la determinación del peso seco foliar de las plantas, da como resultado una diferencia altamente significativa (1%).

Al aplicar la prueba de Duncan, que se indica en el cuadro 8, se nota que las plantas en el tratamiento de frijol abonado(FA) presentan una diferencia significativa de 1% con respecto al resto de los tratamientos efectuados.

Al aplicar la prueba de T. de Student, según se muestra en el cuadro 9, se observa que no existe en ninguno de los casos una diferencia significativa relevante, indicando esto que existió un peso uniforme en los tratamientos excluyendo, claro está, al tratamiento correspondiente al frijol abonado(FA).

En la figura 2 se presentan los promedios del peso seco foliar en los diferentes tratamientos, comprobando lo anteriormente expuesto.

Peso seco radical: El cuadro 10 indica que hay una diferencia altamente

significativa en relación al peso radical de las plantas en los diferentes tratamientos. Aplicando la prueba de Duncan, cuadro 11, se observa que el tratamiento del frijol abonado presenta una diferencia significativa(1%) con respecto a los demás tratamientos y, que el tratamiento de frijol Rhizobium-Micorriza(FRM), también manifiesta esta diferencia con respecto al tratamiento de frijol testigo(F) únicamente.

Sin embargo el cuadro 12, presenta los datos de T. de Student manifestando diferencias significativas de un 1% entre los tratamientos: frijol micorriza(FM) y frijol Rhizobium-Micorriza(FRM); frijol micorriza(FM) y frijol-testigo-(F); frijol Rhizobium(FR) y frijol-testigo-(F); frijol Rhizobium-Micorriza(FRM) y frijol sin esterilizar(FSE).

En la figura 3 se señalan los promedios que representan el peso seco de la raíz de las plantas de frijol en cada uno de los tratamientos, en donde se comprueba lo anteriormente expuesto.

Contenido de fósforo: El cuadro 13 indica que el análisis de varianza aplicado al parámetro del contenido de fósforo a nivel de planta manifiesta una diferencia significativa de un 1%. La prueba de Duncan en el cuadro 14 indica que existe una diferencia significativa de un 1% en relación con el frijol abonado(FA) y el resto de los tratamientos.

Sin embargo, la prueba de T. de Student, presentada en el cuadro 15 determina la existencia de una diferencia significativa entre los siguientes tratamientos: frijol micorriza (FM) y frijol Rhizobium (FR);

frijol micorriza(FM) y frijol sin esterilizar(FSE); frijol micorriza (FM) y frijol-testigo(F); frijol Rhizobium(FR) y frijol Rhizobium-Micorriza(FRM); frijol Rhizobium(FR) y frijol sin esterilizar(FSE) y frijol Rhizobium(FR) y frijol-testigo-(F).

Las diferencias en el contenido de fósforo se pueden observar claramente en la figura 4.

Contenido de Nitrógeno: En el cuadro 16, se observa que al aplicar el análisis de varianza para la determinación del contenido de nitrógeno a nivel de la planta, se manifiesta que existe una diferencia significativa de un 1%.

Esta diferencia entre los diferentes tratamientos queda demostrada al aplicar la prueba de Duncan y T. de Student. Con la primera se determina que el tratamiento de frijol abonado(FA) presenta una diferencia significativa de 1% con respecto al resto de los tratamientos, (cuadro 17) y con la prueba de T. de Student, cuadro 18 se determina que existe una diferencia significativa entre los tratamientos de: frijol micorriza(FM) y frijol sin esterilizar(FSE); frijol micorriza(FM) y frijol-testigo-(F); frijol Rhizobium(FR) y frijol-testigo-(F).

La figura 4 ilustra las diferencias mencionadas anteriormente.

Micorrización: Se visualizó microscópicamente la presencia de la micorrización vesículo-arbuscular(V.A.), en los siguientes tratamientos: frijol micorriza (FM); frijol Rhizobium-Micorriza(FRM) y frijol sin esterilizar(FSE).

Las células corticales de las raíces de las plantas que corresponden a decir la formación de nodulos bacterianos, se puede establecer con las

den a los tratamientos mencionados anteriormente, contenían hifas inter e intracelulares, formando un micelio bastante desarrollado.

Las células meristemáticas y las del tejido vascular no presentaron la infección micorrízica.

Las hifas encontradas en la corteza exterior formaron vesículas en el espacio intercelular o en el lumen de las células corticales. Las vesículas presentaron una forma ovoide, bastante alargada y en algunos casos se pudo observar glóbulos de grasa en su interior.

También se observó la presencia de arbusculas, en diferentes estados de desarrollo, notándose en algunos casos claramente su estructura y su estado de desintegración.

Cabe hacer notar que la presencia de arbusculas y vesículas bien desarrolladas, se presentó mejor en los tratamientos de frijol Rhizobium-Micorriza(FRM) y frijol micorriza(FM) con respecto al tratamiento de frijol sin esterilizar(FSE), en este último se localizó micelio bien desarrollado y una que otra vesícula solamente.

Determinación del micobionte inoculado: Observando al microscopio las características de las esporas utilizadas para la preparación del inóculo del tratamiento de frijol micorriza(FM) y frijol Rhizobium-Micorriza(FRM), y con la ayuda de claves y fotografías de trabajos de investigación en esporas de hongos micorrízicos, se determinó que el género de las esporas empleadas es Glomus y tentativamente se pudo establecer que la especie es Glomus tortuosum Schenck & Smith.

Número y peso de los nódulos bacterianos: En cuanto a estos parámetros, es decir la formación de nódulos bacterianos, se pudo establecer que los

tratamientos correspondientes a frijol Rhizobium(FR); frijol Rhizobium-Micorriza(FRM) y frijol sin esterilizar(FSE) fueron los únicos que presentaron esta relación simbiótica.

Al aplicarles la prueba estadística de análisis de varianza, que se presenta en el cuadro 19 se observa que existió una diferencia significativa de 1% entre ellos, esto con respecto al número de los nódulos.

La prueba de Duncan, en el cuadro 20 nos indica que el tratamiento de frijol Rhizobium(FR) presenta una diferencia significativa de 5% con respecto al frijol Rhizobium-Micorriza(FRM) y con el frijol sin esterilizar(FSE).

La figura 6 ilustra la diferencia existente entre los tratamientos mencionados en cuanto al número de los nódulos bacterianos.

El peso de los nódulos bacterianos, nos indica que también existe una diferencia de un 1% entre los tratamientos mencionados al aplicarle el análisis de varianza, cuadro 21. La prueba de Duncan en el cuadro 22 determina que esa diferencia de peso estriba más que todo en el tratamiento de frijol Rhizobium(FR) con respecto al frijol sin esterilizar(FSE) en un 1%.

La figura 7 permite comprobar los resultados expuestos anteriormente.

DISCUSION

Haciendo un resumen general de los resultados del análisis químico y físico del suelo así como de las pruebas de invernadero, puede concluirse, sin lugar a dudas, que el suelo empleado es sumamente pobre y por ende carecía de la cantidad de nutrientes necesarios, para el buen desarrollo y crecimiento de las plantas de frijol.

Al adicionar una fuente externa de nutrientes a base de nitrógeno y fósforo al sustrato, se logró observar, en todos los parámetros evaluados, una mayor respuesta por parte de las plantas abonadas, siendo este comportamiento lógico, ya que se le dió el suministro adecuado a las plantas para su mejor desarrollo anatómico y fisiológico. Lo cual indica que en este tipo de suelo el cultivo de frijol demanda un fuerte gasto por inversión en abono.

Sin embargo, este suelo pobre en nutrientes, especialmente en fósforo, permitió el desarrollo de la asociación micorrízica vesículo-arbuscular. Lo anterior coincide con los resultados logrados por otros investigadores (Gerdemann, 1968; Harley y Lewis, 1969; Nicolson, 1967) en sus respectivos experimentos con suelos pobres en fósforo.

La discusión de los resultados en los diferentes parámetros evaluados son:

Altura de las plantas: Al evaluar este parámetro se observó claramente la acción del hongo micorrízico al incrementar el crecimiento de éstas, con respecto a los otros tratamientos; excluyendo, por supuesto al frijol abonado(FA).

Con relación a la comparación de las alturas de los tratamientos del frijol micorrizado(FM) con el frijol micorrizado e inoculado con Rhizobium(FRM), se podría explicar dicho comportamiento(cuadro 3), debido a una posible competencia por parte de ambos inóculos que se lleva a cabo durante la etapa temprana de colonización de la rizosfera(Brockwell, 1974; Vidor, sf.), compitiendo Rhizobium con la acción del micobionte, lo cual explicaría la menor altura de las plantas de frijol Rhizobium-Micorriza(FRM).

El tratamiento de frijol sin esterilizar(FSE), a pesar de que contenía los endófitos nativos, tanto bacterial como micorrízico, no presentó una acción significativa con respecto al frijol micorrizado(FM), con el frijol inoculado con Rhizobium(FR), esto se puede explicar con base en que el inóculo nativo es menos eficiente que el inóculo utilizado, lo cual concuerda con otros estudios realizados(Erdman, 1948; Obaton, 1977; Stowers y Elkan, 1980; Brockwell, 1974; Weaver y Frederick, 1974) en que el Rhizobium nativo presentó una baja capacidad fijadora de nitrógeno. Otros estudios(Hall, 1976; Ferguson, 1981; Manjunath y Bagyaraj, 1981; Daniels y Skipper, 1982) determinaron que el potencial infectivo de un suelo está definido por la cantidad del inóculo micorrízico presente, el tipo, viabilidad y densidad del mismo, lo cual está directamente relacionado con las condiciones ambientales, tales como temperatura, humedad, pH, etc.

La acción micorrízica queda demostrada al comparar el tratamiento del frijol micorrizado (FM) con el testigo(F), ya que en éste último

caso las plantas se encontraron en un medio precario desde el punto de vista de nutrientes y libre de todo tipo de organismos capaces de establecer alguna relación simbiótica positiva (cuadro 4 y 6).

Peso seco foliar: Las pruebas estadísticas realizadas para evaluar el parámetro del peso seco foliar, en las plantas de frijol, indicaron que solamente aquellas que correspondían al tratamiento del frijol abonado (FA) presentaban una diferencia significativa con respecto al resto de los tratamientos (cuadro 8).

Los demás tratamientos en este aspecto (cuadros 8 y 9) presentaron una mayor uniformidad. La posible explicación de este comportamiento, podría atribuirse a que las plantas, en estos casos, se vieran afectadas por los síntomas típicos de deficiencia de nutrientes, lo cual a su vez contribuyó al ataque externo de hongos e insectos que no pudieron ser combatidos con ningún plaguicida, debido a que estudios realizados por Gerdemann, 1968 y Mosse, 1973 demostraron que el uso de sustancias químicas externas afectan la acción micorrízica. Desafortunadamente no se pudo disponer de condiciones ambientales que previnieran esos efectos.

Peso seco radical: Al contrario del caso anterior, el peso seco a nivel de raíz, presentó estadísticamente diferencias significativas entre los diferentes tratamientos: el tratamiento correspondiente al frijol

Rhizobium-Micorriza (FRM) trabajó más eficientemente en este aspecto, con relación al frijol micorrizado (FM), al frijol sin esterilizar (FSE) y al testigo (F), (cuadro 12) pero no existió una diferencia significativa con el frijol Rhizobium (FR). Sin embargo, si se observa la figura 3, en el apéndice se nota una pequeña diferencia en el promedio del frijol Rhizobium-Micorriza (FRM) con el frijol Rhizobium (FR), lo cual podría deberse

a que al alcanzar ambos un período en el cual ya los diferentes inóculos se han establecido en el hospedero, la competencia inicial desaparece y ambos simbioses pueden trabajar conjuntamente logrando que exista un mayor aprovechamiento de los recursos existentes por parte de la planta.

Lo anterior parece comprobarse al no existir una diferencia significativa, entre los tratamientos con los inóculos por separado, es decir con el frijol Rhizobium(FR) y el frijol micorrizado(FM), ver cuadro 11.

Con este mismo parámetro se demuestra, que las cepas nativas de bacterias y hongos que se localizaron en el tratamiento del frijol sin esterilizar(FSE) no son eficientes, ya que no existió incremento alguno de éste en relación con los demás tratamientos.

Contenido de fósforo: En torno al parámetro de la concentración de fósforo los resultados obtenidos indican que el fósforo en suelos de baja fertilidad es el nutriente más importante que está involucrado, en la respuesta de la acción micorrízica vesículo-arbuscular y que se localiza en mayor concentración en plantas micorrizadas en relación con plantas no micorrizadas, (cuadro 13) como lo reportan estudios de otros investigadores(Gerdemann, 1975 y Tinker, 1975). Esto se puede explicar asumiendo que el micelio externo del endófito micorrízico, actúa como una malla o red que amplía la relación de la planta con el suelo; así se puede absorber más fósforo y trasladarlo a las raíces, donde es transferido al hospedante micorrízico; aumentando de esta manera el volumen del suelo utilizado, al aumentar también el sistema de absorción de nutrientes por la planta (Baylis, 1959; Gerdemann, 1964).

Contenido de nitrógeno: En cuanto a la asimilación de nitrógeno se comprueba en este estudio que el inóculo de Rhizobium, fue eficiente en su acción fijadora de nitrógeno, sin embargo, hay que destacar que la acción del inóculo micorrízico también fue significativa en la absorción de nitrógeno (cuadro 16). Ross y Harper, 1970, correlacionaron lo anterior al encontrar una mayor concentración de nitrógeno en el tejido foliar de plantas micorrizadas, sugiriendo esto una mejor captación de nitrógeno llevada a cabo por la micorriza.

Este papel del fósforo en la nodulación y la fijación de nitrógeno por Rhizobium ha sido bien documentada (Van Schreven, 1958). Así, el aumento de la nutrición de nitrógeno de leguminosas no parece ser un efecto directo de la translocación hifal de nitrógeno, sino más bien un efecto secundario, debido al mejor suministro de fósforo a las raíces de las plantas (Rhodes y Gerdemann, 1980).

La importancia de la acción micorrízica en la nutrición del fósforo por parte de plantas en ambientes precarios, podría compararse a la de Rhizobium en la nutrición del nitrógeno (Sanders y Tinker, 1973).

Micorrización: La presencia de un micelio bien desarrollado; arbusculas en diferentes estadios de desintegración y vesículas bien formadas, indican un excelente desarrollo de la asociación micorrízica (Jansen, 1896; Bevege y Bowen, 1975). En esta investigación se comprobó lo anterior en el tratamiento de frijol micorriza (FM) y frijol Rhizobium-Micorriza (FRM), sin embargo, en el tratamiento correspondiente al frijol sin esterilizar (FSE), se observaron estas estructuras pero en menor cantidad y desarrollo, debido probablemente a la poca eficacia del inóculo nativo del sustrato, sin embargo F. Pereira (comunicación personal) trabajando

con Cajanus cajan (gandul) determinó que el inóculo nativo es más eficiente que el inóculo no nativo.

Determinación del micobionte inoculado: Las esporas que se emplearon como inóculo micorrízico, se definió que pertenecían a la especie Glomus tortuosum Schenck & Smith por presentar un manto de hifas sinuosas que cubría cada espora, característica típica de esa especie (Shenck y Smith, 1982).

Número y peso de los nódulos bacterianos: El número y peso de los nódulos en las plantas, indican que la cepa de Rhizobium phaseoli utilizada en este estudio fue muy eficiente. La asociación del micobionte con la bacteria permitió favorecer, en forma indirecta, la fijación de nitrógeno, en el tratamiento del frijol sin esterilizar (FSE) que poseía los dos organismos nativos en el suelo, cuadros 19, 20, 21, 22.

Es preciso mencionar, que este es uno de los primeros esfuerzos en el campo de la investigación micorrízica en nuestro país, y que el trabajo aquí expuesto abre las puertas a una serie de interrogantes acerca del comportamiento en nuestro medio, de este tipo de asociación simbiótica con plantas de interés agrícola como industrial.

CONCLUSIONES

Bajo las circunstancias en las cuales se llevó a cabo el presente trabajo y de acuerdo con los resultados obtenidos puede concluirse que:

- 1-En un suelo con un pH de 5.5 y con una concentración de 5 ug de fósforo/100 ml de suelo, se estableció perfectamente la asociación micorrízica en Phaseolus vulgaris L. (frijol común).
- 2-Se logró una mayor absorción y transferencia de fósforo en las plantas micorrizadas.
- 3-La micorriza no puede sustituir en forma total al fertilizante utilizado.
- 4-La acción conjunta del inóculo bacterial y el micorrízico, incrementó la absorción de nutrientes por parte de las plantas, en sitios y condiciones precarias en cuanto a fertilidad, textura y composición del suelo.
- 5-El micobionte nativo del suelo empleado, fue menos efectivo que el inóculo micorrízico adicionado al sustrato.
- 6-El inóculo bacterial nativo fue menos eficiente que el inóculo adicionado al sustrato.

RECOMENDACIONES

- 1-Sugerir un estudio sistemático en Costa Rica, que determine las especies de hongos que producen micorrizas vesículo-arbuscular que existan y que puedan ser utilizadas como elemento de investigación.
- 2-Investigar el efecto de diferentes especies de hongos micorrizantes, sobre especies vegetales de valor económico e industrial.
- 3-Determinar el tipo, viabilidad y cantidad de inóculo óptimo para realizar los diferentes tratamientos en condiciones de invernadero.
- 4-Trabajar con mayor cantidad de tratamientos y mayor número de plantas hospedantes, con el fin de establecer correctamente el período de inicio de la acción micorrízica.
- 5-Determinar los efectos de plaguicidas y diferentes fertilizantes sobre la acción micorrízica.
- 6-Evaluar el efecto de estas asociaciones en la ecología del suelo.

Para la evaluación de los resultados se tomaron en cuenta los parámetros de altura de las plantas, masa seca foliar y radicular, porcentaje de nitrógeno y fósforo, presencia o ausencia de la micorriza y la acción bacteriológica en los diferentes tratamientos.

Los resultados demostraron que el cultivo de frijol en condiciones naturales en una semilla, frías y húmedas de las plantas. Sin embargo, al adicionar una fuente de abono adecuado

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en un invernadero de la Escuela de Biología de la Universidad de Costa Rica; localizado en San Pedro de Montes de Oca.

Consistió en estudiar la posibilidad de incrementar la productividad del cultivo de Phaseolus vulgaris L. (frijol común), induciendo asociaciones simbióticas de tipo bacteriana y fúngica.

Para tal efecto se realizaron los siguientes tratamientos:

- Frijol abonado (FA): abono a base de nitrógeno y fósforo.
- Frijol micorrizado (FM): inóculo de esporas y micelio de un micobionte capaz de formar micorrizas vesículo-arbusculares.
- Frijol Rhizobium (FR): inóculo de bacteria perteneciente al género Rhizobium phaseoli
- Frijol Rhizobium-Micorriza (FRM): inoculado con los dos tipos de microorganismos, es decir bacterias y micobionte.
- Frijol sin esterilizar (FSE): en condiciones naturales, sin esterilizar.
- Frijol-testigo- (F): sin tratamiento alguno.

Para la realización de estos tratamientos se utilizó un suelo pobre en fósforo y esterilizado en autoclave y con bromuro de metilo.

Para la evaluación de los resultados se tomaron en cuenta los parámetros de altura de las plantas, peso seco foliar y radical; porcentaje de nitrógeno y fósforo, ausencia o presencia de la micorrización y la acción bacterial en los diferentes tratamientos.

Los resultados demostraron que el suelo empleado no permite en sus condiciones naturales un buen desarrollo, crecimiento y nutrición de las plantas. Sin embargo, al adicionar una fuente de abono adecuada a base de nitrógeno y fósforo el comportamiento de las plantas es marcadamente positivo.

Al inducir asociaciones simbióticas de tipo fúngico y bacterial, las plantas respondieron bastante bien a las limitaciones de su medio, en donde la presencia de inóculos bacteriales y fúngicos nativos fueron menos eficientes que los inóculos que se aplicaron artificialmente.

- 2-Alexander, M. 1977. *Introduction to soil microbiology*, 2 ed. New York, John Wiley & Sons. 467 p.
- 3-Asada, C., Naranjo, J. 1980. *Micorrizas. Investigación y Ciencia*. N° 471. 8-16.
- 4-Baylis, G. 1959. The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizas on growth of *Crucifera littoralis* (Ceratophyllaceae). *New Phytol.*, 58: 276-280.
- 5-Baylis, G. 1967. Experiments on the ecological significance of mycorrhizal mycorrhizas. *New Phytol.*, 66: 211.
- 6-Baylis, G. 1975. The mycorrhizal mycorrhizas and mycorrhizal systems derived from it. In *Ecology of mycorrhizas*, Edited by F. S. Foster, R. H. Wood and P. D. Tiger. Academic Press, London. 211-407 pp.

LITERATURA CITADA

- 1-Akai, S.; Horino, O.; Fukutomi, M.; Nakata, A.; Kunolt, H. & Shiraishi, M. 1971. Cell wall reaction to infection and resulting change in cell organelles. In Morphological and biochemical events in plant parasite interaction (Eds. Akai, S. & Ouchi, S.). The Phytopathological Society of Japan, Tokyo. 329-344 pp.
- 2-Alexander, M. 1977. Introduction to soil microbiology. 2 ed. New York, John Wiley & Sons. 467 p.
- 3-Azcón, C.; Barea, J. 1980. Micorrizas. Investigación y Ciencia. N° 47: 8-16.
- 4-Baylis, G. 1959. The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizas on growth of Griselinia littoralis (Cornaceae). New Phytol., 58: 274-280.
- 5-Baylis, G. 1967. Experiments on the ecological significance of phycomycetous mycorrhizas. New Phytol, 66: 231.
- 6-Baylis, G. 1975. The magnolioid mycorrhiza and mycotrophy in root systems derived from et. In Endomycorrhizas. Edited by F.E. Sanders, B. Mosse and P.B. Tinker Academic Press, London. 391-407 pp.

- 7- Bevege, D. and Bowen, G. 1975. Endogone strain and host plant differences in development of vesicular-arbuscular mycorrhizas. In. F.E. Sanders, B. Mosse, and P.B. Tinker (eds), Endomycorrhizas. Academic Press, London. 77-86 pp.
- 8-Bhat, K. and Nye, P. 1974. Diffusion of phosphate to plant roots in soil. III. Depletion around onion roots without root hairs. Pl. Soil, 41: 383-394.
- 9-Black, R. and Tinker, P. 1977. Interaction between effects of vesicular-arbuscular mycorrhiza and fertilizer phosphorous on yields of potatoes in the field. Nature, 267: 510-511.
- 10-Bowen, G. 1973. Mineral nutrition of ectomycorrhizae. Ectomycorrhizae their ecology and physiology, G.C. Marks and T.T. Kozlowski, eds. Academic Press: New York and London. 151-205 pp.
- 11-Briceno, J.; Pacheco, R.; González, M. y López, C. 1984. Métodos analíticos para el estudio de suelos y plantas. Centro de Investigaciones Agronómicas. Universidad de Costa Rica. 137 p.
- 12-Brill, W. 1981. Agricultural Microbiology. Scientific American, 245(1): 146-156.
- 13-Brockwell, J. 1974. Ecology and legume-rizobia associations. Reprinted from the Proceeding & the Indian Natural Sci. 40B(6): 687-699.
- 14-Burgeff, H. 1938. Mycorrhiza. Manual of Pteridology. The Hague, 150-191.
- 15-Bushnell, W. 1972. Physiology of fungal haustoria. A. Rev. Phytopath 10: 151-176.

- 16-Carling, D.; Riehle, G.; Brown, M. and Johnson, D. 1978. Effects of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus on nitrate reductase and nitrogenase activities in nodulating and non-nodulating soybeans. *Phytopathology*, 68: 1590-1596.
- 17-Clark, F. 1963. Endotrophic mycorrhizal influence yellow poplar seedling growth. *Science, N.Y.*, 140: 1220-1221.
- 18-Cooper, K. and Tinker, P. 1978. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. II Uptake and translocation of phosphorus, zinc and sulphur. *New Phytol*, 81: 43-52.
- 19-Cox, G. and Sanders, F. 1974. Ultrastructure of the host-fungus interface in a vesicular-arbuscular mycorrhiza. *New Phytol*, 73: 901-912.
- 20-Cox, G. and Tinker, P. 1976. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. I. The arbuscule and phosphorus transfer: a quantitative ultrastructural study. *New Phytol*, 77: 371-378.
- 21-Cox, G.; Sanders, F.; Tinker, P. and Wild, J. 1975. Ultrastructural evidence relating to host-endophyte transfer in a vesicular-arbuscular mycorrhiza. In. F.E. Sanders, B. Mosse, and P.B. Tinker (eds), *Endomycorrhizas*, Academic Press, London. 298-312 pp.
- 22-Cox, G.; Moran, K.; Sanders, C.; Nockolds and Tinker, P. 1980. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas III. Polyphosphate granules and phosphorus translocation. *New Phytol.*, 84: 649-659.

- 23-Cress, W.; Throneberry, G. & Lindsey, D. 1979. Kinetics of phosphorus absorption by mycorrhizal and non-mycorrhizal tomato roots. *Plant Physiology*, 64: 484-487.
- 24-Cromack, K.; Sollins, W.; Graustein, K.; Speidel, A.; Todd, G. Spycher, C.Y. Li, and Todd, R. 1979. Calcium exylate accumulation and soil weathering in mats of the hypogeous fungus Hysterangium crassum. *Soil Biol. Biochem.*, 11: 463-468.
- 25-Crush, J. 1974. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. VII. Growth and nodulation of some herbage legumes. *New Phytol*, 73: 743-749.
- 26-Daft, M. & Nicolson, T. 1969. Effect of Endogone mycorrhiza on plant growth. *New Phytol*, 65: 343-350.
- 27-Daft, M. & Nicolson, T. 1969. Effect of Endogone mycorrhiza on plant growth. III. Influence of inoculum concentration on growth and infection in tomato. *New Phytologist*, 68: 953-961.
- 28-Daniels, B. and Skipper, H. 1982. Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. In N.C. Schenck, *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*, The American Phytopathological Society. 29-35 pp.
- 29-Deal, D.; Boothroyd, C. and Mai, W. 1972. Replanting of vineyards and its relationship to vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Phytopathology*, 62: 172-175.
- 30-Dörr, I. & Kollmann, R. 1969. Fine structure of mycorrhiza in Neottia nidus-avis (L) L.C. Rich. (Orchidaceae). *Planta*, 89: 372-375.

- 31-Erdman, L. 1948. Legume inoculation: What it is; what does?
U.S. Department of Agriculture. Farmer's bulletin, N°.2003:
20 p.
- 32-Ferguson, J. 1981. Inoculum production and field application of
vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Ph. D. Dissertation.
University of California, Riverside. 117 pp.
- 33-Frank, A. 1885. Ueber die auf Wurzelkymbiose beruhende Ernährung
gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. Ber. Deut. Bot. Ges.
3: 128-145.
- 34-Furian, V. and Fortin, J. 1973. Formation of endomycorrhizal by
endogone Calospora on Allium cepa under three temperature re-
gimes. Naturaliste Canadien, 100 (5): 467-477.
- 35-Gallaud, I. 1905. Etudes sur les mycorrhizes endotrophes.
Rev. Gén. Bot., 17: 5-48, 123-136, 223-239, 313-325, 423-433,
479-500.
- 36-Gerdemann, J. 1964. The effect of mycorrhiza on the growth of
maize. Mycologia, 56: 342-349.
- 37-Gerdemann, J. 1965. Vesicular-arbuscular mycorrhizae formed on
maize and tuliptree by Endogone fasciculata. Mycologia,
57: 562-575.
- 38-Gerdemann, J. 1968. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant
growth. Ann. Rev. Phytopathol, 6: 397-418.
- 39-Gerdemann, J. 1975. Vesicular-arbuscular mycorrhizae. In the De-
velopment and Function of Roots (J.G. Torrey and D.T. Clarkson,
Eds.), Academic Press London. 575-591 pp.
- 40-Gerdemann, J. and Nicolson, T. 1963. Spores of mycorrhizal Endogo-
ne species extracted from soil wet sieving and decanting. Trans.
Brit. Mycol., 46: 235-244.

- 41-Gerdemann, J. and Trappe, J. 1974. The Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycologia Memoir*, 5 : 1-76.
- 42-Gianinazzi-Pearson, V. and Gianinazzi, S. 1976. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhiza. I. Effect of mycorrhiza formation and phosphorus nutrition on soluble phosphatase activity in onion roots. *Physiol. Veg.*, 14: 833-841.
- 43-Gianinazzi-Pearson, V. and Gianinazzi, S. 1978. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhiza II. Soluble phosphatase specific to mycorrhizal infection in onion roots. *Physiol. Plant. Pathol.*, 12: 45-53.
- 44-Graustein, W., Cromack, K. and Sollins, P. 1977. Calcium oxylate: Occurrence in soils effect on nutrient and geochemical cycles. *Science*, 198: 1252-1254.
- 45-Graw, A. and Schenck. 1980. Growth stimulation of citrus, ornamental and vegetable crops by select mycorrhizal fungi. *Proc.Fla. State Hort. Soc.*, 93: 201-205.
- 46-Gray, L.E. and Gerdemann, J. 1973. Uptake of sulphur-35 by vesicular arbuscular mycorrhizae. *Plant and soil*, 39: 687-689.
- 47-Guadamuz, E. 1980. Relación entre Morfología Radical y Componentes de Producción en Frijol Común *Phaseolus vulgaris*, (L). San José, Costa Rica, Universidad de Costa Rica. 69 p.
- 48-Hacskeylo, E. 1973. Carbohydrate physiology of ectomycorrhizae. *Ectomycorrhizae*. (ed. Marks, G.C. & Koslowski, T.T.), Academic Press, New York. 207-230 pp.
- 49-Hall, I.R. 1976. Response of *Coprosma robusta* to different forms of endomycorrhizal inoculum. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 67: 409-411.

- 50-Harley, J.L. 1969. The Biology of Mycorrhiza, Leonard Hill, London. 334 pp.
- 51-Harley, J.L. & Wilson, J.M. 1959. Absorption of potassium by beech mycorrhizas. *New Phytol.*, 58: 281-298.
- 52-Harley, J.L. & Lewis, D.H. 1969. The physiology of ectotrophic mycorrhizas. *Adv. Microb. Physiol.*, 3: 53-81.
- 53-Hattingh, M.H.; Gray, L.E. & Gerdemann, J.W. 1973. Uptake and translocation of 32 P-labelled phosphate to onion roots by endomycorrhizal fungi. *Soil Sci.*, 116: 383-387.
- 54-Hayman, D.S. 1974. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza VI. Effect of light and temperature. *New Phytol.*, 71-73.
- 55-Hayman, D. 1980. Mycorrhiza and crop production. *Nature*, 287: 487-488.
- 56-Hayman, D.S. and Mosse, B. 1972. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. III. Increased uptake of labile P from soil. *New Phytol.*, 71: 41-47.
- 57-Ho, I. and Trappe, J.M. 1975. Nitrate reducing capacity of two vesicular-arbuscular Mycorrhizal fungi. *Mycologia*, 67: 886-888.
- 58-Holley, J.D. and Peterson, R.L. 1979. Development of a vesicular arbuscular mycorrhiza in bee roots. *Can J. Bot.*, 57: 1960-1978.
- 59-Jackson, N.E., Miller, R.H. and Franklin, R.E. 1973. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal on uptake of Sr^{90} from soil by soybeans. *Soil Biol Biochem*, 5: 205-212.

- 60-Jansen, J.M. 1896. Les endophytes radicaux de quelques plantes javanaises. Ann. de Jard. Bot. de Buitenzorg, 14: 53-212.
- 61-Jiménez, E. 1978. Comentarios sobre la producción de frijol Phaseolus vulgaris L. en Costa Rica. Agronomía Costarricense, 2(1): 103-108.
- 62-Kaspari, H. 1975. Fine structure of the Host-Parasite interface in endotrophic mycorrhiza of tobacco. In. F.E. Sanders, B. Mosse, and P.B. Tinker (eds.), Endomycorrhizas, Academic Press, London. 325-334 pp.
- 63-Kelley, A.P. 1950. Mycotrophy in plants. Chronica Botánica Co. Waltham, Mass. 223 pp.
- 64-Kessler, K.J. and Blank, R.W. 1972. Endogone sporocarps associated with sugar maple. Mycologia, 64: 634-638.
- 65-Khan, A.G. 1972. The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal associations on growth of cereals. I. Effects on maize growth. New Phytol, 71: 613-619.
- 66-Khan, A.G. 1975. The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal associations on growth of cereals. II. Effects on wheat growth. Ann. Appl. Biol., 80: 27-36.
- 67-Killana, N. and Schenck, N. 1970. Interactions between a vesicular-arbuscular mycorrhizal Fungus and Root Knot Nematode on Soybean. Ecology and Epidemiology, 70 (4): 293-296.
- 68-Kinden, D.A. and Brown, M. 1975. Electron microscopy of vesicular-arbuscular mycorrhizal of yellow poplar. III. Host-endophyte interactions during arbuscular development. Can. J. Microbiol., 21: 1930-1939.

- 69-Kinden, D.A. and Brown, M. 1976. Electron microscopy of vesicular-arbuscular mycorrhizal of yellow poplar. IV. Host-endophyte interactions during arbuscular deterioration. *Can. J. Microbiol.*, 22: 64-75.
- 70-LaRue, J.H., Mc Ciellan, W. and Peacock, W. 1975. Mycorrhizal fungi and peach nursery nutrition. *Calif. Agric.*, 29: 6-7.
- 71-Lewis, D.H. 1970. Physiological aspects of symbiosis between green plants and fungi. *Lichenologist.*, 4: 326-336.
- 72-Lewis, D.H. 1973. Concepts in fungal nutrition and the origin of biotrophy. *Biol. Rev.*, 48: 261-278.
- 73-Lewis, D.H. 1974. Microorganisms and plants: the evolution of parasitism and mutualism. *Symp. Soc. Gen. Microbiol.*, 24: 367-392.
- 74-Lewis, D.H. and Harley, J.L. 1965. Carbohydrate physiology of mycorrhizal roots of beech III. Movement of sugars between host and fungus. *New Phytol.*, 64: 256-269.
- 75-Ling-Lee, M., Chilvers, G. and Ashford, A. 1975. Polyphosphate granules in three different kinds of tree mycorrhiza. *New Phytol.*, 75: 551-554.
- 76-Manjunath, A. and Bagyaraj, D. 1981. Components of V.A. mycorrhizal inoculum and their effects on growth of onion. *New Phytol.*, 87: 355-363.
- 77-Marx, D.H., Bryan, W. and Campbell, W. 1971. Effect of endomycorrhizae formed by Endogone mosseae on growth of Citrus. *Mycologia*, 63: 1222-1226.

- 79-Menge, J.; Platt, R. and Johnson, E. 1981. Vesicular arbuscular mycorrhizal fungi associated with citrus in florida and california and notes of their distribution and ecology. *Mycologia*. 73(1): 122-127.
- 80-Meyer, F.H. 1966. Mycorrhiza and other plant symbiosis. *Symbiosis* Vol 1 (Ed. Henry, S.M.). Academic Press New York. 171-255 pp.
- 81-Meyer, F.H. 1974. Physiology of Mycorrhiza. *Ann. Rev. Plant. Physiol*: 25: 567-586.
- 82-Mosse, B. 1972 a. Effects of different Endogone strains on the Paspalum notatum. *Nature*, 221-239.
- 83-Mosse, B. 1972 b. The influence of soil type and Endogone strain on the growth of mycorrhizal plants in phosphate deficient soils. *Rev. Ecol. Biol. Sol.*, 9: 529.
- 84-Mosse, B. 1973. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Annu. Rev. Phytopathol*, 11: 171-196.
- 85-Mosse, B. and Jones, G. 1968. Separation of Endogone spores from organic soil debris by differential sedimentation on gelatin columns. *Trans. Br. Mycol Soc.*, 51: 604-608.
- 86-Muller, L. 1961. Un aparato micro Kjeldhal simple para análisis rutinarios rápidos de materias vegetales. *Turrialba*, 11: 17-25.
- 87-Nicholas, G. 1932. Association des Bryophytes avec d' autres organismes. *Manual of Bryology*. The Hague, 109-128.
- 88-Nicolson, T.H. 1959. Mycorrhizae in the gramineae. I. Vesicular-arbuscular endophytes with special reference to the external phase. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 42: 421-438.

- 89-Nicolson, T.H. 1967. Vesicular-arbuscular mycorrhiza a universal plant symbiosis. *Sci. Prog. (Oxford)*, 55: 561-581.
- 90-Nicolson, T.H. 1975. Evolution of vesicular-arbuscular mycorrhizas. In *Endomycorrhizas*, F.H. Sanders, B.Mosse, and P.B. Tinker, eds. Academic Press: New York and London. 25-34 pp.
- 91-Nicolson, T.H. and Johnston, C. 1979. Mycorrhiza in the Gramineae. III. Glomus fasciculatus as the endophyte of pioneer grasses in a maritime sand dune. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 72: 261-268.
- 92-Obaton, M. 1977. Effectiveness, saprophytic and competitive ability. Three properties of Rhizobium essential for increasing the yield of inoculated legumes. In Ayanaba, A. y Dart R.J., eds. *Biological nitrogen fixation in farming systems of the tropical*. New York, Wiley. 127-133 pp.
- 93-Ohms, R. 1957. A flotation method for collecting spores of a phycomycetous mycorrhizal parasite from soil. *Phytopathology* 47: 751-752.
- 94-Pearson, V. & Read, D. 1975. The physiology of the mycorrhizal endophyte of Calluna vulgaris. *Transactions of the British Mycological Society*, 43: 132-145.
- 95-Pearson, V. and Tinker, P. 1975. Measurement of phosphorus fluxes in the external hyphae of endomycorrhizas. In F.E. Sanders, B.Mosse and P.B. Tinker(eds), *Endomycorrhizas*. Academic Press, London. 277-287 pp.
- 96-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. *Transactions of the British Mycological Society*, 55: 158-160.

- 97-Plenchette, C.; Furlan, V. and Fortin, J. 1981. Growth stimulation of apple trees in unsterilized soil under field conditions with V.A. mycorrhiza inoculation. *Canadian Journal of Botany*, 59(11): 2003-2008.
- 98-Possingham, J. and Groot, J. 1971. Endotrophic mycorrhiza and the nutrition of grape vines. *Vitis*, 10: 120-130.
- 99-Pugh, L.; Roncadori, R. and Hussey, R. 1981. Factors affecting vesicular-arbuscular development and growth of cotton. *Mycologia*, 73(5): 869-879.
- 100-Ratnayake, M.R.; Leonard, R.T. and Menge, J.A. 1978. Root exudation in relation to supply of phosphorus and its possible relevance to mycorrhizal formation. *New Phytol*, 81: 542-552.
- 101-Reisenauer, H.M. 1966. Mineral nutrients in soil solution. In: P.S. Altman and D.S. Dittmer(eds.), *Environmental biology*, Federation of American Societies for Experimental Biology, Bethesda, Md. 507-508 pp.
- 102-Rhodes, L.H. 1980. The use of mycorrhizae on crop production systems. *Out look on Agric.*, 10: 275-281.
- 103-Rhodes, L.H. and Gerdemann, J.W. 1978. Translocation of calcium and phosphate by external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Soil Sci*, 126: 125-126.
- 104-Rhodes, L.H. and Gerdemann, 1980. Nutrient translocation in Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae. In: *Cellular interactions in Symbiosis and Parasitism*, Clayton B. Cook, Peter W. Pappas, and Emanuel D. Rudolph, eds., The Ohio State University Press, Columbus, Ohio, 305 pp.

- 105-Ross, J. 1971. Effect of phosphate fertilization on yield of mycorrhizal and non mycorrhizal soybean. *Phytopathology*, 61: 672-674.
- 106-Ross, J. and Harper, J. 1970. Effect of Endogone mycorrhiza and non mycorrhizal soybeans. *Phytopathology*, 61: 1400-1403.
- 107-Ruehle, J.L. and Marx, D.H. 1979. Fiber, food, fuel, and fungal symbionts. *Science*, 206: 419-422.
- 108-Sáenz, A. 1962. El frijol común. Curso sinóptico de algunos cultivos de Costa Rica. Serie Agronómica N°.4. Edit. Universitaria. 108 p.
- 109-Saif, S.K., and Khan, A. 1977. The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal associations on growth of cereals. III. Effects on barley growth. *Plant Soil*, 47: 17-26.
- 110-Sanders, F.E. & Tinker, P.B. 1971. Mechanism of absorption of phosphate from soil by Endogone mycorrhizas. *Nature*, London, 233: 278-279.
- 111-Sanders, F.E. and Tinker, P.B. 1973. Phosphate flow into mycorrhizal roots. *Pestic. Sci.*, 4: 385-395.
- 112-Sanders, F.E.; Mosse, B. and Tinker, P.B. 1975. *Endomycorrhizas* Academic Press: New York and London. 626 p.
- 113-Sanders, F.E.; Tinker, P.B., Black, L.B. and Palmerly, S.M. 1977. The development of endomycorrhizal root systems. I. Spread of infection and growth-promoting effects with four species of vesicular-arbuscular endophyte. *New Phytol*, 78: 257-268.
- 114-Schenck, N. and Hinson, K. 1971. Endotrophic vesicular-arbuscular mycorrhizal on soybean on Florida. *Mycologia*, 63: 672-674.

- 115-Schenck, N.C. and Schroder, U. 1974. Temperature response of *Endogone mycorrhiza* on soybean roots. *Mycologia*, 66: 600.
- 116-Schenck, N.C. and Smith, G. 1982. Additional new and unreported species of mycorrhizal fungi (Endogonaceae) from Florida. *Mycologia*, 74(1): 77-92.
- 117-Shooknecht, J.D. and Hattingh, M. 1976. X-ray microanalysis of elements in cells of V.A. mycorrhizal and nonmycorrhizal onions. *Mycologia*, 68:296-303.
- 118-Smith, S.E. 1974. Mycorrhizal fungi. *Critical Rev. Microbiol.*, 3: 275-313.
- 119-Smith, D.C.; Muscatine, L. & Lewis, D.H. 1969. Carbohydrate movement from autotrophs to heterotrophs in parasitic and mutualistic symbiosis. *Biol. Rev.*, 44: 17-40.
- 120-Stowers, K.L. and Eikan, G.H. 1980. Criteria for selecting ineffective and effective strains of *Rhizobium* for use in the tropical agriculture, North Carolina, Agricultural Research Service. Technical Bulletin, N°.264: 73 p.
- 121-Theodorou, C. 1968. Inositol phosphate in needles of *Pinus radiata* D. Don and the phytase activity of mycorrhizal fungi. *U Th. Int. Congr. Soil Sci. Trans.*, 3: 483-490.
- 122-Tinker, P.B. 1975. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on higher plants. *Symp. Soc. exp. Biol.* 29: 325-349.
- 123-Unger, F. 1840. Beitrge zur kenntnis der parasitischen pflanzen. Erster oder anatomisch physiologiscehn theil *Ann. Wien. Mus. Naturgeschi*, 2: 13.
- 124-Van Schreven, D.A. 1958. Some factors affecting the uptake of nitrogen by legumes. In E.G. Hallsworth(ed.), *Nutrition of the legumes*. Butterworths, London. 137-163 pp.

- 125-Vasey, E.H. and Barker, S.A. 1963. Effect of soil placement on the adsorption of Rb^{86} and P^{32} from soil by corn roots. Proc. Soil. Sci. Soc. Am., 27: 193-197.
- 126-Vidor, C. sf. Microbial restraints on legume symbiosis. Porto Alegre, Brasil, Universidad Federal de Rio Grande de Sul, Departamento de Solo. 23p.
- 127-Weaver, R.W. and Frederick, L.R. 1974. Effect of inoculum rate on competitive nodulation of Glycine max (L). Merrill, II. Field studies. Agronomy Journal, 66: 232-236.

Cuadro 1. Propiedades químicas del miel utilizado.

PARAMETROS	VALORES
pH	5-5
Aluminio	0.25 mg/100 ml. miel
Calcio	5.00 mg/100 ml. miel
Magnesio	2.20 mg/100 ml. miel
Fósforo	0.31 mg/100 ml. miel
Potasio	5.00 mg/ml. miel
Sodio	5.00 mg/ml. miel
Manganeso	19.00 mg/ml. miel
Cobre	14.00 mg/ml. miel

APENDICE

Cuadro 2. Propiedades físicas del miel utilizado.

PARAMETROS	VALORES
Tipo de textura	Frango
Densidad aparente	1.11
Acidez	43.00%
Acididad	11.00%
Viscosidad	30.00%

Cuadro 1. Propiedades químicas del suelo utilizado.

PARAMETROS	VALORES
pH	5.5
Aluminio	0.25 meq/100 ml. suelo
Calcio	5.00 meq/100 ml. suelo
Magnesio	2.00 meq/100 ml. suelo
Potasio	0.31 meq/100 ml. suelo
Fósforo	5.00 ug/ml. suelo
Zinc	5.00 ug/ml. suelo
Manganeso	19.00 ug/ml. suelo
Cobre	34.00 ug/ml. suelo

Cuadro 2. Propiedades físicas del suelo utilizado.

PARAMETROS	VALORES
Tipo de textura	Franco
Densidad aparente	1.11
Arena	48.00%
Arcilla	14.00%
Limo	38.00%

Cuadro 3. Altura semanal en centímetros en los diferentes tratamientos.

TRATAMIENTOS	ALTURA/SEMANA									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Zestigo (F)	6.51	7.44	8.10	8.75	9.14	9.35	9.94	10.42	10.91	11.37
Frijol Abonado (FA)	8.83	12.34	20.94	40.65	59.10	71.75	72.80	75.30	76.50	78.40
Frijol Sin Esterilizar (FSE)	3.09	4.29	5.27	6.55	7.47	8.73	9.58	10.49	11.36	12.08
Frijol <u>Rhizobium</u> (FR)	3.02	4.76	6.48	7.51	8.57	9.72	10.34	11.11	11.48	11.93
Frijol <u>Rhizobium</u> -mico- rriza (FRM)	3.22	4.04	5.99	7.26	8.38	9.76	10.24	10.71	11.53	12.17
Frijol Micorriza (FM)	7.73	10.32	12.22	13.18	13.90	14.73	15.16	15.50	16.23	16.51

cuadro 3. Diferencia entre medios de tratamientos (Prueba de Duncan), con relación a la altura de las plantas.

TREATMENTS	1	2	3	4	5	6
FA	78.4	16.51	12.17	11.93	12.08	11.37
FR	78.4	51.83	56.25	56.52	56.47	57.03

Cuadro 4. Análisis de varianza, con relación a la altura de las plantas.

TRATAMIENTOS	PROMEDIOS(cm)
Testigo(F)	11.37
Frijol Sin Esterilizar(FSE)	12.08
Frijol Abonado(FA)	78.40
Frijol <u>Rhizobium</u> (FR)	11.93
Frijol <u>Rhizobium</u> -Micorriza(FRM)	12.17
Frijol Micorriza(FM)	16.51

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	F
Tratamientos	5	7204.61	65.94 ⁺
Error	54	109.26	
Total	59		

+ Significativo al 1%

Cuadro 5. Diferencia entre medias de tratamientos (Prueba de Duncan), con relación a la altura de las plantas.

TRATAMIENTOS		FA	FM	FRM	FSE	FR	F
		78.4	16.51	12.17	12.08	11.93	11.37
FA	78.4	0	61.89 ⁺	66.23 ⁺	66.32 ⁺	66.47 ⁺	67.03 ⁺
FM	16.51		0	4.34 [']	4.43 [']	4.58 [']	5.14 [']
FRM	12.17			0	0.09 [']	0.24 [']	0.8 [']
FSE	12.08				0	0.15 [']	0.71 [']
FR	11.93					0	0.56 [']
F	11.37						0

+ Significativo al 1%

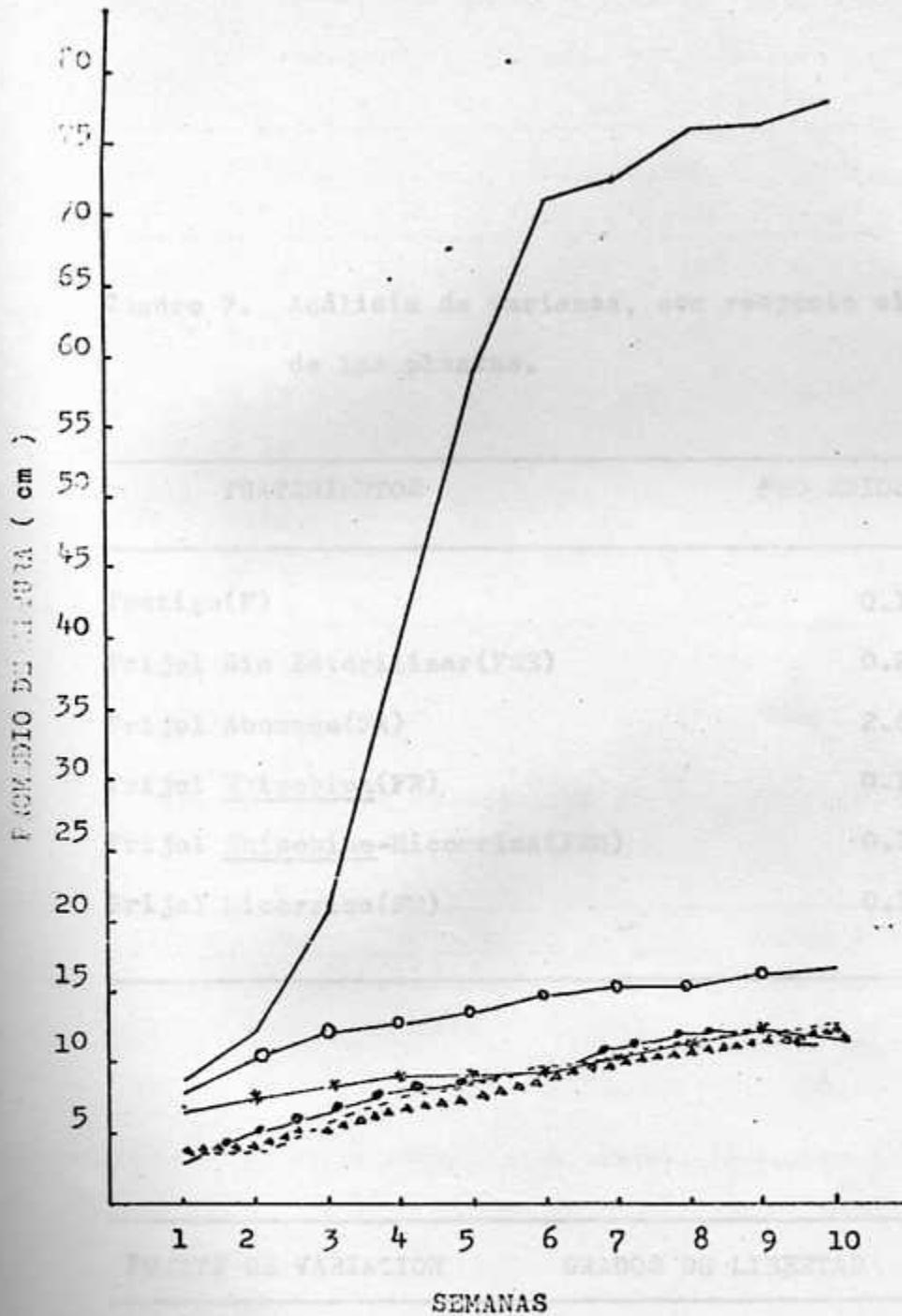
' No Significativo

Cuadro 6. Prueba estadística de T. de Student respecto a la altura en centímetros.

TRATAMIENTOS		PROMEDIOS		DIFERENCIAS	T.DE STUDENT
1	2	1	2		
FM	FRM	16.51	12.17	4.34	6.38 ⁺
FM	FR	16.51	11.93	4.58	8.48 ⁺
FM	FSE	16.51	12.08	4.43	7.50 ⁺
FM	F	16.51	11.37	5.14	12.54 ⁺
FM	FA	16.51	78.40	-61.89	-8.00 ⁺
FR	FRM	11.93	12.17	-0.24	-0.66 [,]
FR	F	11.93	11.37	0.56	1.40 [,]
FR	FSE	11.93	12.08	-0.15	-0.26 [,]
FSE	FRM	12.08	12.17	-0.09	-0.70 [,]

+ Significativo al 1%

' No Significativo



- Frijol Abonado (FA) —————
- Frijol Micorriza (FM) —○—○—
- Frijol-testigo- (F) —*—*—
- Frijol Rhizobium (FR) —●—●—
- Frijol Sin Esterilizar (FSE) —△△△△—
- Frijol Rhizobium-Micorriza (FRM) - - - -

Figura 1. Altura semanal de las plantas, por un período de 10 semanas.

Cuadro 7. Análisis de varianza, con respecto al peso seco foliar de las plantas.

TRATAMIENTOS	PRO MEDIOS(g)
Testigo(F)	0.15
Frijol Sin Esterilizar(FSE)	0.20
Frijol Abonado(FA)	2.61
Frijol <u>Rhizobium</u> (FR)	0.19
Frijol <u>Rhizobium</u> -Micorriza(FRM)	0.16
Frijol Micorriza(FM)	0.18

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS
Tratamientos	5	9.93
Error	54	0.148
Total	59	

+ Significativo al 1%

Cuadro 8. Diferencia entre medias de tratamiento (Prueba de Duncan), con relación al peso seco foliar.

Tratamientos	FA	FSE	FR	FM	FRM	F	
	2.61	0.20	0.19	0.18	0.16	0.15	
FA	2.61	0	2.41 ⁺	2.42 ⁺	2.43 ⁺	2.45 ⁺	2.46 ⁺
FSE	0.20	0	0.01'	0.02'	0.04'	0.05'	
FR	0.19		0	0.01'	0.03'	0.04'	
FM	0.18			0	0.02'	0.03'	
FRM	0.16				0	0.01'	
F	0.15					0	

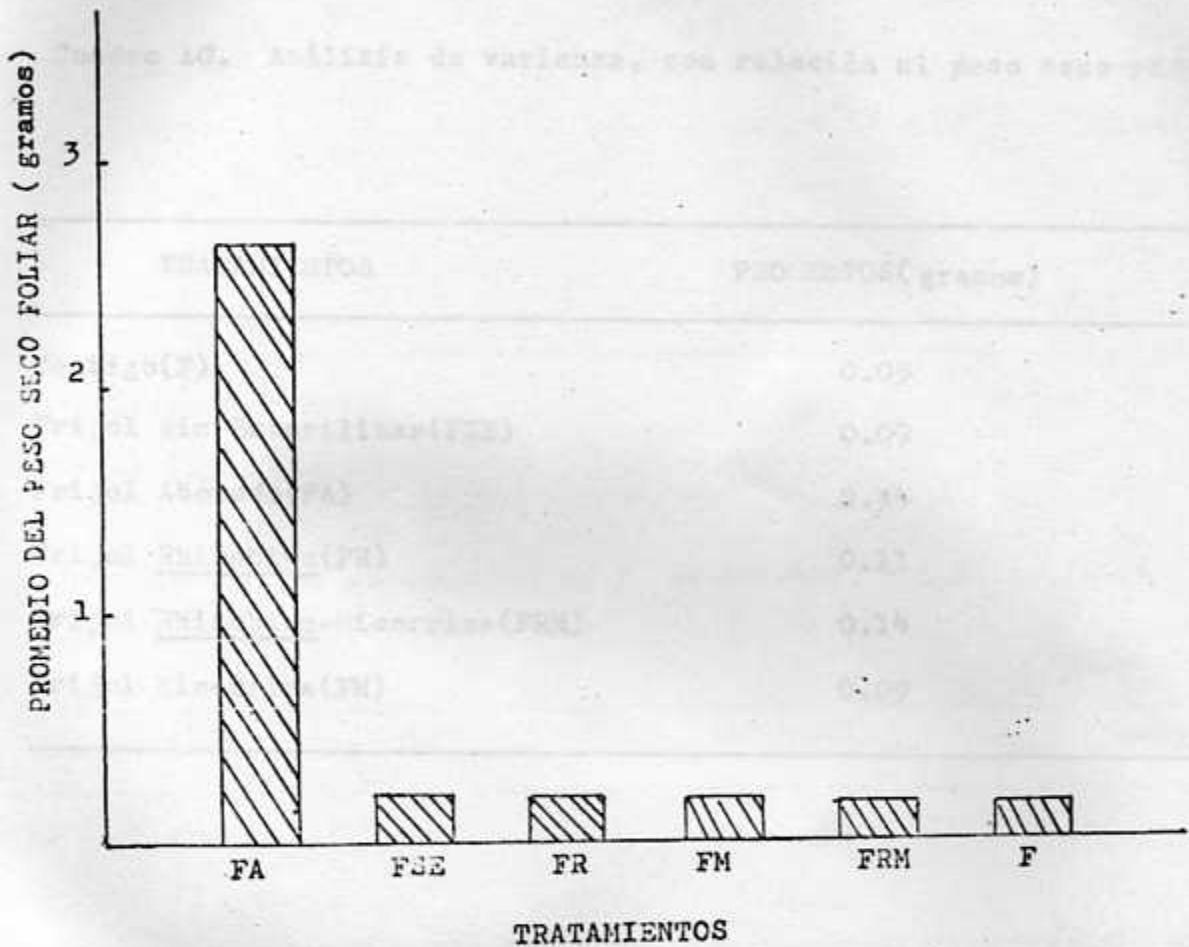
+ Significativo al 1%

' No Significativo

Cuadro 9. Prueba estadística de T. de Student, con respecto al peso seco foliar en gramos.

TRATAMIENTOS		PROMEDIOS		DIFERENCIAS	T. DE STUDENT
1	2	1	2		
FM	FRM	0.18	0.16	0.02	0.7'
FM	FR	0.18	0.19	-0.01	-0.3'
FM	FSE	0.18	0.20	-0.02	-0.7'
FM	F	0.18	0.15	0.03	1'
FR	FRM	0.19	0.16	0.03	1.5'
FR	FSE	0.19	0.20	-0.01	-0.33'
FR	F	0.19	0.15	0.04	2'
FRM	F	0.16	0.15	0.01	0.5'
FRM	FSE	0.16	0.20	-0.04	-1.33'
FSE	F	0.20	0.15	0.05	1.67'

'No Significativo



- Frijol Abonado (FA)
- Frijol Sin Esterilizar (FSE)
- Frijol Rhizobium (FR)
- Frijol Micorriza (FM)
- Frijol Rhizobium-Micorriza (FRM)
- Frijol-testigo- (F)

Figura 2. Promedio del peso seco(gramos) de la parte aérea de las plantas de frijol en cada tratamiento, a las 10 semanas.

Cuadro 10. Análisis de varianza, con relación al peso seco radical.

TRATAMIENTOS	PROMEDIOS(gramos)
Testigo(F)	0.05
Frijol Sin Esterilizar(FSE)	0.09
Frijol Abonado(FA)	0.34
Frijol <u>Rhizobium</u> (FR)	0.11
Frijol <u>Rhizobium</u> -Micorriza(FRM)	0.14
Frijol Micorriza(FM)	0.09

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	F
Tratamientos	5	0.104	28.11 ⁺
Error	54	0.0037	
Total	59		

+ Significativo al 1%

Quadro 11. Diferencia entre medias de tratamientos (Prueba de Duncan), con relación al peso seco radical.

TRATAMIENTOS		FA	FRM	FR	FM	FSE	F
		0.34	0.14	0.11	0.09	0.09	0.05
FA	0.34	0	0.2 ⁺	0.23 ⁺	0.25 ⁺	0.25 ⁺	0.29 ⁺
FRM	0.14		0	0.03	0.05	0.05	0.09 ⁺
FR	0.11			0	0.02 [']	0.02 [']	0.06 [']
FM	0.09				0	0	0.04 [']
FSE	0.09					0	0.04 [']
F	0.05						0

+^x Significativo al 1%

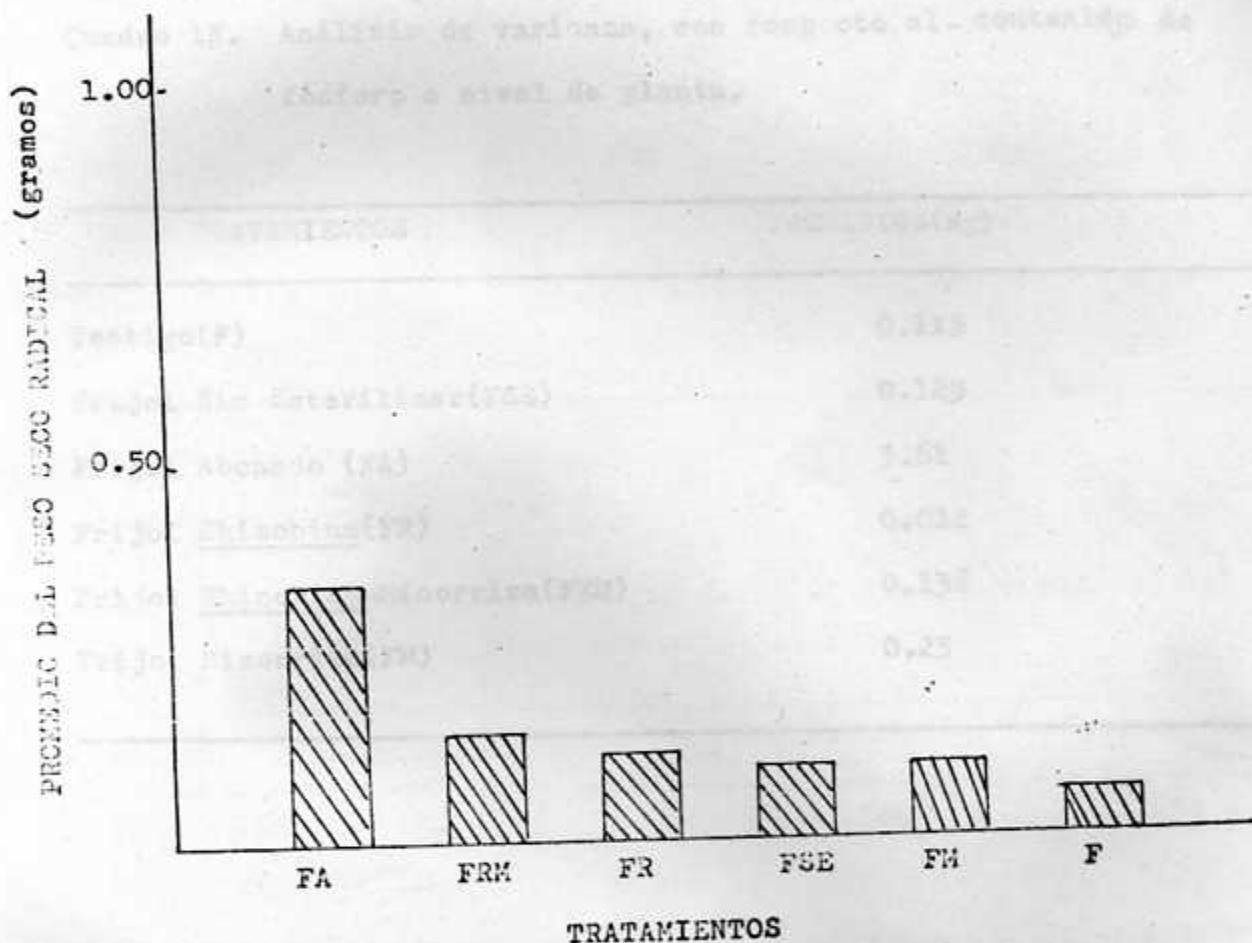
' No Significativo

Quadro 12. Prueba estadística de T. de Student, con relación al peso seco radical en gramos.

TRATAMIENTOS		PROMEDIOS		DIFERENCIAS	T. DE STUDENT
1	2	1	2		
FM	FRM	0.09	0.14	-0.05	-5 ⁺
FM	FR	0.09	0.11	-0.02	-2 [']
FM	FSE	0.09	0.09	0	0 [']
FM	F	0.09	0.05	0.04	5 ⁺
FR	FRM	0.11	0.14	-0.03	-1.5 [']
FR	FSE	0.11	0.09	0.02	1 [']
FR	F	0.11	0.05	0.06	3 ⁺
FRM	F	0.14	0.05	0.09	4.5 ⁺
FRM	FSE	0.14	0.09	0.05	2.5 ⁺
FSE	F	0.09	0.05	0.04	2 [']

+ Significativo al 1%

' No Significativo



- Frijol Abonado (FA)
- Frijol Rhizobium-Micorriza (FRM)
- Frijol Rhizobium (FR)
- Frijol Sin Esterilizar (FSE)
- Frijol Micorriza (FM)
- Frijol-testigo- (F)

Figura 3. Promedio del peso seco(gramos) a nivel de raíz de las plantas de frijol en cada tratamiento, a las 10 semanas.

Quadro 13. Análisis de varianza, con respecto al contenido de fósforo a nivel de planta.

TRATAMIENTOS	PROMEDIOS(mg)
Testigo(F)	0.115
Frijol Sin Esterilizar(FSE)	0.125
Frijol Abonado (FA)	3.61
Frijol <u>Rhizobium</u> (FR)	0.012
Frijol <u>Rhizobium</u> -Micorriza(FRM)	0.138
Frijol Micorriza(FM)	0.23

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	F
Tratamientos	5	8.11	69 ⁺
Error	18	0.117	
Total	23		

+ Significativo al 1%

Cuadro 14. Diferencia entre medias de tratamientos (Prueba de Duncan), con relación al contenido de fósforo a nivel de planta.

TRATAMIENTOS		FA	FM	FRM	FSE	F	FR
		3.61	0.23	0.138	0.125	0.115	0.012
FA	3.61	0	3.38 ⁺	3.47 ⁺	3.48 ⁺	3.49 ⁺	3.60 ⁺
FM	0.23		0	0.09 [']	0.10 [']	0.115 [']	0.22 [']
FRM	0.138			0	0.01 [']	0.02 [']	0.32 [']
FSE	0.125				0	0.01 [']	0.11
F	0.115					0	0.10 [']
FR	0.012						0

+ Significativo al 1%

' No Significativo

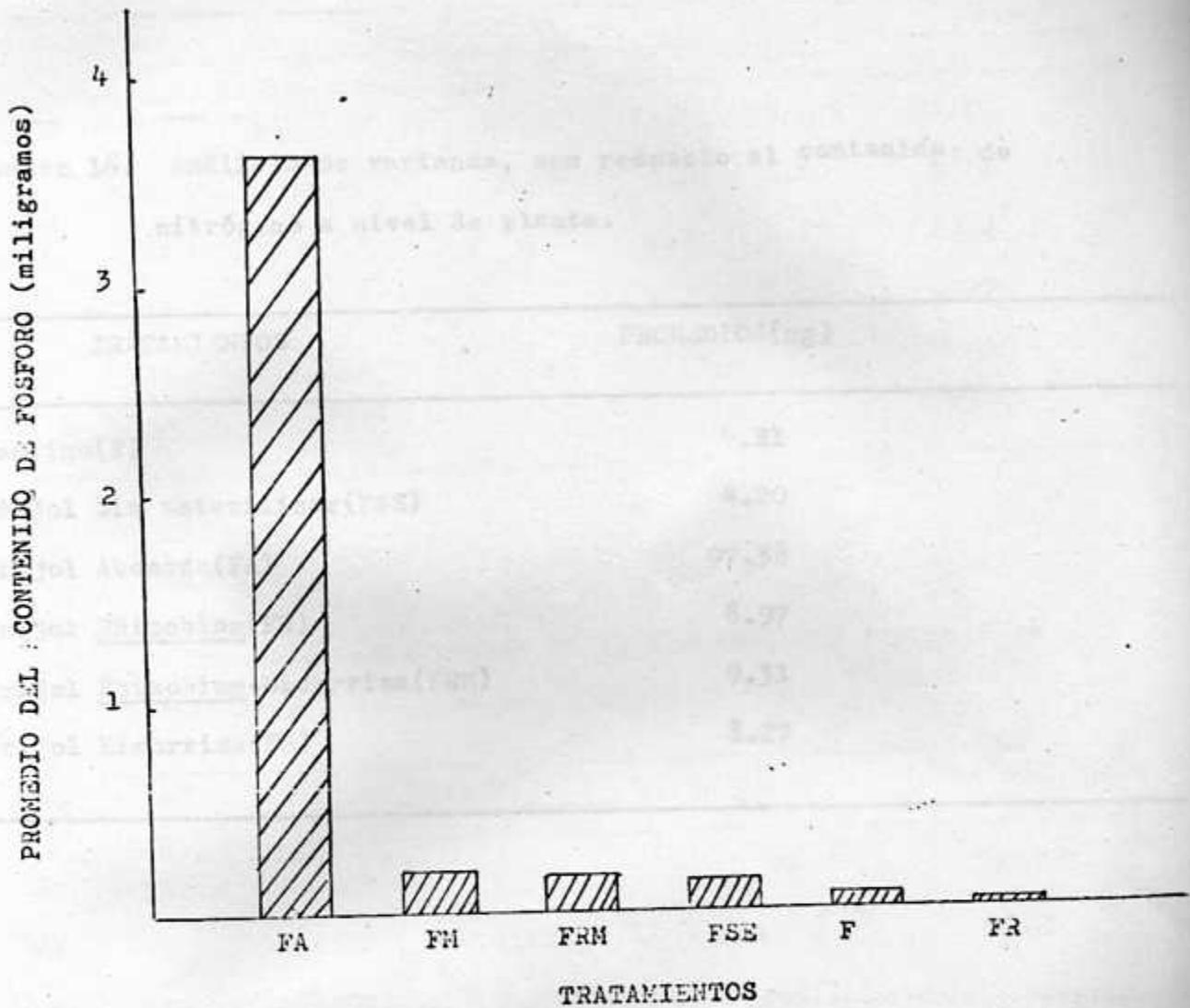
Cuadro 15. Prueba estadística de T. de Student, con relación al contenido de fósforo a nivel de planta.

TRATAMIENTOS		PROMEDIOS		DIFERENCIAS	T. DE STUDENT
1	2	1	2		
FM	FRM	0.23	0.138	0.092	1.53 [']
FM	FR	0.23	0.012	0.218	7.27 ⁺
FM	FSE	0.23	0.125	0.105	3.50 ⁺
FM	F	0.23	0.115	0.115	3.83 ⁺
FR	FRM	0.012	0.138	-0.126	-2.52 ["]
FR	FSE	0.012	0.125	-0.113	-5.65 ["]
FR	F	0.012	0.115	-0.103	-14.7 ⁺
FRM	F	0.138	0.115	0.023	0.46 [']
FRM	FSE	0.138	0.125	0.013	0.16 [']
FSE	F	0.125	0.115	0.01	0.50 [']

+ Significativo al 1%

' No Significativo

" Significativo al 5%



- Frijol Abonado (FA)
- Frijol Micorriza (FM)
- Frijol Rhizobium-Micorriza (FRM)
- Frijol Sin esterilizar (FSE)
- Frijol -testigo- (F)
- Frijol Rhizobium (FR)

Figura 4. Promedio del contenido de fósforo a nivel de planta (miligramos) al transcurrir 10 semanas.

Quadro 16. Análisis de varianza, con respecto al contenido de nitrógeno a nivel de planta.

TRATAMIENTOS	PROMEDIOS(mg)
Testigo(F)	4.21
Frijol Sin esterilizar(FSE)	4.20
Frijol Abonado(FA)	97.38
Frijol <u>Rhizobium</u> (FR)	8.97
Frijol <u>Rhizobium</u> -Micorriza(FRM)	9.31
Frijol Micorriza(FM)	8.27

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	F
Tratamientos	5	5467.6	28 ⁺
Error	18	197.04	
Total	23		

+ Significativo al 1%

Cuadro 17. Diferencia entre medias de tratamientos (Prueba de Duncan), con relación al contenido de nitrógeno a nivel de planta.

TRATAMIENTOS	FA	FRM	FR	FM	F	FSE	
	92.38	9.31	8.97	8.27	4.21	4.20	
FA	97.38	0	88.07 ⁺	88.41 ⁺	89.11 ⁺	93.17 ⁺	93.18 ⁺
FRM	9.31	0	0.34	1.04	5.10	5.11	
FR	8.97		0	0.7	4.76	4.77	
FM	8.27			0	4.06	4.07	
F	4.21				0	0.01	
FSE	4.20					0	

+ Significativo al 1%

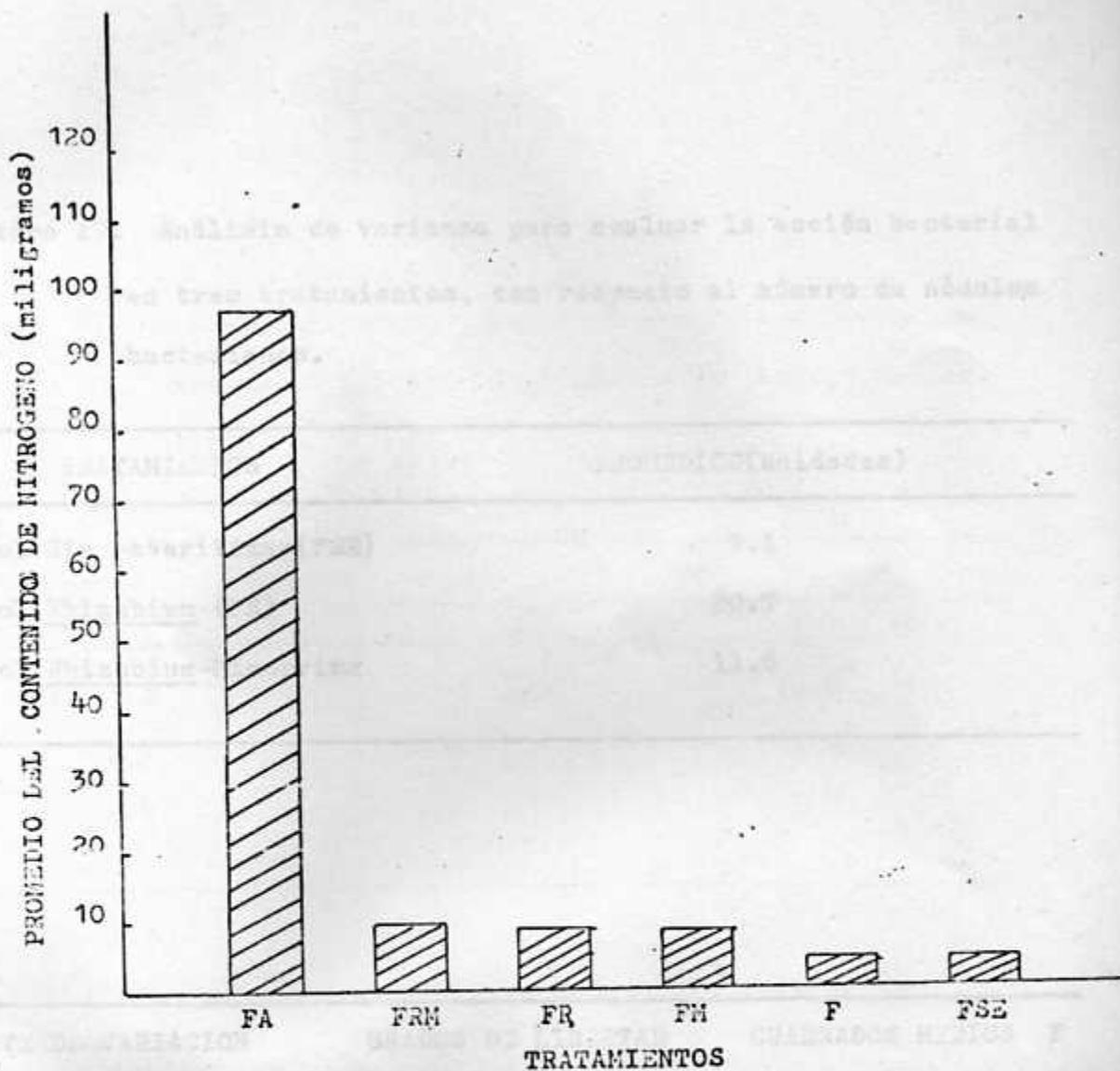
' No Significativo

Cuadro 18. Prueba estadística de T. de Student, con respecto al contenido de nitrógeno a nivel de planta.

TRATAMIENTOS		PROMEDIOS		DIFERENCIAS	T. DE STUDENT
1	2	1	2		
FM	FRM	8.27	9.31	-1.04	-0.38
FM	FR	8.27	8.97	-0.7	-0.26
FM	FSE	8.27	4.20	4.07	3.13 ["]
FM	F	8.27	4.21	4.06	3.47 ["]
FR	FRM	8.97	9.31	-0.34	0.11
FR	FSE	8.97	4.20	4.77	2.37 ["]
FR	F	8.97	4.21	4.76	2.45 ["]
FRM	F	9.31	4.21	5.10	2.06
FRM	FSE	9.31	4.20	5.11	2.03
FSE	F	4.20	4.21	-0.01	-0.01

" Significativo al 5%

' No Significativo



- Frijol Abonado (FA)
- Frijol Rhizobium-Micorriza (FRM)
- Frijol Rhizobium (FR)
- Frijol Micorriza (FM)
- Frijol -testigo- (F)
- Frijol Sin Esterilizar (FSE)

Figura 5. Promedios del contenido de nitrógeno a nivel de planta (miligramos) al transcurrir 10 semanas.

Cuadro 19. Análisis de varianza para evaluar la acción bacterial en tres tratamientos, con respecto al número de nódulos bacterianos.

TRATAMIENTOS	PROMEDIOS(unidades)
Frijol Sin esterilizar(FSE)	9.1
Frijol <u>Rhizobium</u> (FR)	20.7
Frijol <u>Rhizobium</u> -Micorriza	11.6

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	F
Tratamientos	2	372.7	3.86 +
Error	27	96.57	
Total	29		

+ Significativo al 1%

Cuadro 20. Diferencia entre medias de tratamientos (Prueba de Duncan), con respecto al número de nódulos bacterianos.

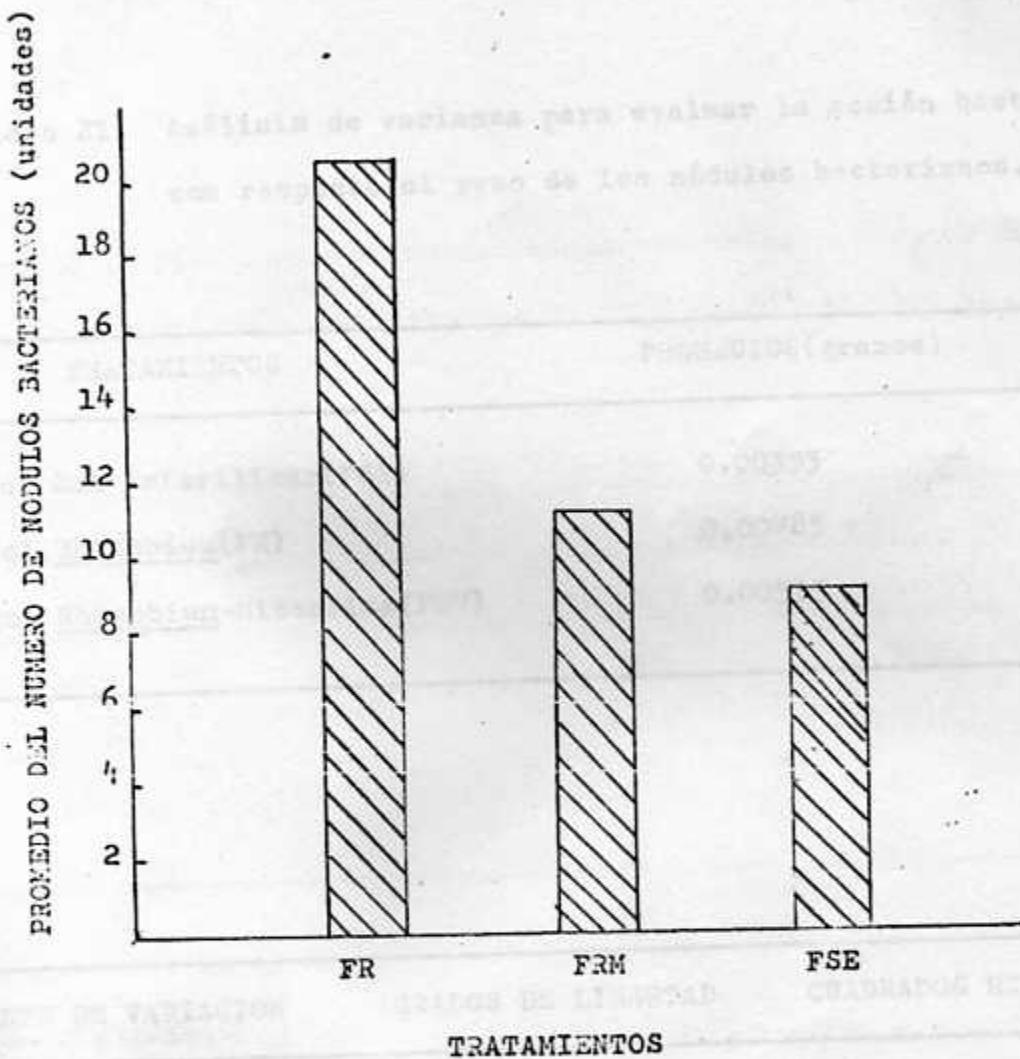
TRATAMIENTOS		FR	FRM	FSE
		20.7	11.6	9.1
FR	20.7	0	9.1"	11.6"
FRM	11.6		0	2.5'
FSE	9.1			0

" Significativo al 5%

' No Significativo

Fríjol Wiskobian (FR)
 Fríjol Wiskobian-licorina (FRM)
 Fríjol sin nódulos (FSE)

Figura 5. Proceso del número de nódulos bacterianos (nódulos), a las 10 semanas.



- Frijol Rhizobium (FR)
- Frijol Rhizobium-Micorriza (FRM)
- Frijol Sin Esterilizar (FSE)

Figura 6. Promedio del número de nódulos bacterianos (unidades), a las 10 semanas.

Cuadro 21. Análisis de varianza para evaluar la acción bacterial, con respecto al peso de los nódulos bacterianos.

TRATAMIENTOS	PROMEDIOS(gramos)
Frijol Sin Esterilizar(FSE)	0.00353
Frijol <u>Rhizobium</u> (FR)	0.00785
Frijol <u>Rhizobium</u> -Micorriza(FRM)	0.00535

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS	F
Tratamientos	2	0.000047	5.22 ⁺
Error	27	0.000009	
Total	29		

+ Significativo al 1%

Cuadro 22. Diferencia entre medias de tratamientos (Prueba de Duncan), con respecto al peso de los nódulos bacterianos.

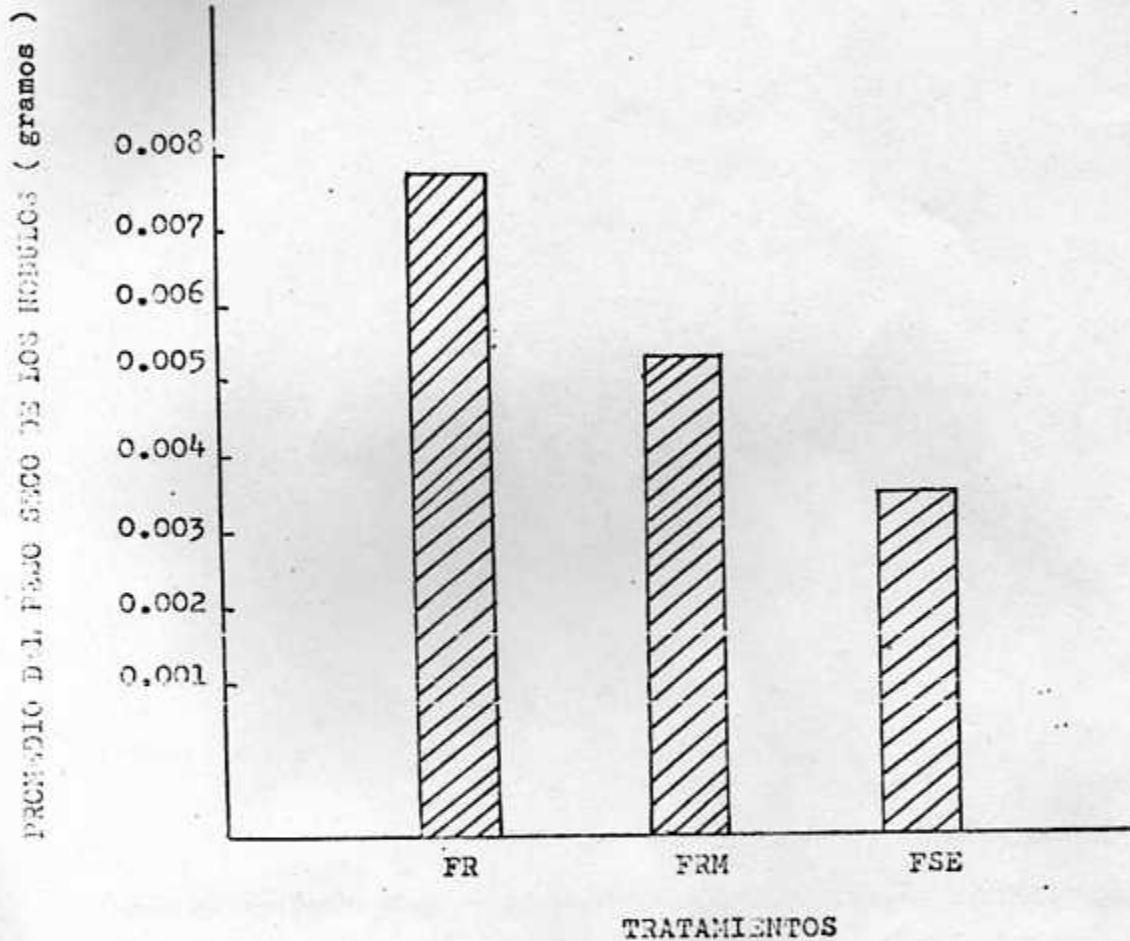
TRATAMIENTOS	FR	FRM	FSE
	0.00785	0.00535	0.00353
FR 0.00785	0	0.0025	0.00432 +
FRM 0.00535		0	0.00182
FSE 0.00353			0

+ Significativo al 1%

' No Significativo

Prueba de Duncan (FR)
 Prueba de Duncan (FRM)
 Prueba de Duncan (FSE)

Figura 7. Efecto del peso seco (g) de los nódulos bacterianos, a las 10 semanas.



Frijol Rhizobium (FR)

Frijol Rhizobium-Micorriza (FRM)

Frijol Sin Esterilizar (FSE)

Figura 7. Promedio del peso seco(gramos) de los nódulos bacterianos, a las 10 semanas.

