

# CONTENIDO

	Pág.
I. INTRODUCCION .....	1
II. MARCO TEORICO .....	5
2.1. CULTIVO DE RAICES TRANSFORMADAS .....	5
2.2. SIMBIOSIS MICORRIZICA .....	6
2.3. CLASIFICACION DE LA MICORRIZAS .....	6
2.3.1. Ectomicorrizas .....	7
2.3.2. Endomicorrizas .....	8
2.3.3. Ectendomicorrizas.....	10
2.4. DISTRIBUCION GEOGRAFICA .....	11
2.5. FACTORES QUE AFECTAN LA MICORRIZACION .....	13
2.5.1. Factores de la planta .....	13
2.5.2. Factores del suelo .....	14
2.5.3. Factores del clima .....	18
2.6. IMPORTANCIA DE LAS MICORRIZAS .....	19
2.7. JUSTIFICACION DEL TRABAJO .....	22
2.8. ALTERNATIVA BIOTECNOLÓGICA .....	25
2.9. ANTECEDENTES .....	26
2.10. OBJETIVOS .....	29
2.11. METAS .....	29
III. MATERIALES Y METODOS .....	30
A. MATERIAL VEGETAL .....	31
A.1. OBTENCION DE RAICES TRANSFORMADAS .....	31
A.2. CARACTERIZACION DE LAS LINEAS .....	32
A.3. ESTABLECIMIENTO DE CULTIVOS BAJO CONDICIONES MINIMAS DE FOSFORO .....	32
B. MATERIAL INOCULANTE .....	33
B.1. DETERMINACION DE LA VIABILIDAD DE ESPORAS .....	35
B.2. EFECTO DEL FOSFORO SOBRE LA GERMINACION DE ESPORAS .....	35
C. INOCULACION <i>in vitro</i> .....	36
D. DISEÑO EXPERIMENTAL .....	38
E. ANALISIS ESTADISTICO .....	38
IV. RESULTADOS Y DISCUSION .....	39
A. MATERIAL VEGETAL .....	39
A.1. OBTENCION DE RAICES TRANSFORMADAS .....	39
A.2. CARACTERIZACION DE LA LINEAS .....	39
A.3. ESTABLECIMIENTO DE CULTIVOS BAJO CONDICIONES MINIMAS DE FOSFORO .....	42
B. MATERIAL INOCULANTE .....	43

B.1. DETERMINACION DE LA VIABILIDAD DE LAS ESPORAS .....	43
B.2. EFECTO DEL FOSFORO SOBRE LA GERMINACION DE ESPORAS .....	46
C. INOCULACIÓN <i>in vitro</i> .....	49
V. CONCLUSIONES .....	56
APENDICE 1. MEDIOS DE CULTIVO .....	57
APENDICE 2. SOLUCIONES PARA TINCION DE RAICES Y OBTENCION DE ESPORAS ... ...	61
APENDICE 3. ESTADISTICO .....	62
BIBLIOGRAFIA .....	63

## RESUMEN

---

En la naturaleza las micorrizas vesículo-arbusculares otorgan una amplia gama de beneficios a las plantas hospederas, ya que las hifas de éstas aumentan la zona de absorción de los nutrientes principalmente P, Cu y Zn, aportan mayor resistencia al estrés hídrico y al ataque por patógenos y además ayudan a disminuir la erosión del suelo mediante la formación de agregados. El principal problema para la aplicación de esta metodología es la falta de un método orientado a la producción masiva del inóculo inicial. Recientemente se ha iniciado el desarrollo de una nueva tecnología para la producción de estos inóculos, la cual consiste en inocular raíces cultivadas *in vitro* con esporas asépticas de hongos micorrízicos. Raíces transformadas de *Daucus carota* (línea Z1 y Z15) inducidas con la cepa 1855T de *Agrobacterium rhizogenes*, fueron mantenidas y caracterizadas durante un curso temporal de 36 días en medio líquido B5 a la mitad de su fuerza iónica y mantenidas en agitación y total oscuridad. Su tiempo de duplicación fue de 2.88 días para la primera línea y de 1.15 días para la segunda línea. Asimismo, se evaluó su crecimiento en los medios WM y B<sub>5</sub> a la mitad de su fuerza iónica y suplementados con sacarosa al 3%, bajo condiciones mínimas de fósforo; a los 25 días de cultivo se observó un aumento en el crecimiento conforme aumentaba la concentración de fósforo.

Se establecieron en macetas cultivos puros de *Acaulospora scrobiculata*, a partir de las cuales se aislaron y desinfestaron superficialmente esporas para su posterior incubación en la oscuridad a 36°C en medio agar-agua, medio Hepper y en medio M. No se observaron diferencias significativas sobre la germinación de las esporas en estos tres medios. Un segundo lote fue establecido en medio B<sub>5</sub> a la mitad de su fuerza suplementado con 1% de sacarosa bajo diferentes concentraciones de fósforo; los resultados muestran que probablemente existen dos poblaciones de esporas que germinan diferencialmente en respuesta a la presencia de fósforo. Grupos de por lo menos 5 esporas pregerminadas fueron establecidos con segmentos radiculares (cultivo dual) en medio M y diferentes concentraciones de fósforo en medio B<sub>5</sub> a la mitad de su fuerza con sacarosa 1%, habiéndose observado bajo las condiciones experimentales el crecimiento y ramificación hifal después de 10 semanas de cultivo en la oscuridad a 32°C en dos réplicas del tratamiento 0.16 mM y una de 0.22 mM de P.