

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 nutrimentos 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 B₅ 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 tre medios. Un segundo lote fue establecido en medio B₅ 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 B₅ 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.