



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE
HIDALGO

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS
Y FORESTALES

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS
BIOLÓGICAS, OPCIÓN CIENCIAS AGRICOLAS

LA INTERACCIÓN *Glomus intraradices*- FERTILIZACIÓN NITROGENADA Y SU EFECTO SOBRE EL CRECIMIENTO, EL ESTADO NITROGENADO Y LA CALIDAD DE FRUTOS DE PLANTAS DE FRESA (*Fragaria x ananassa* Duch) CV AROMAS, CULTIVADAS EN HIDROPONÍA.

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS, PRESENTA:

M.C. VILMA DEL CARMEN CASTELLANOS MORALES.

DIRECTOR DE TESIS:

DR. RAÚL CÁRDENAS NAVARRRO.

MORELIA, MICHOACÁN; AGOSTO DEL 2007.

INDICE

	Página
i. <i>Resumen General</i>	1
ii. Introducción General	5
iii. Hipótesis	14
iv. Objetivo General	15
v. Objetivos particulares	15
vi. Resultados	
vi.i. Capitulo I. Selección de un sustrato para el desarrollo de plantas de fresa micorrizadas, en hidroponía.	
vi.i.i. Resumen	16
vi.i.ii. Introducción	18
vi.i.iii. Materiales y Métodos	20
vi.i.iv. Resultados	22
vi.i.v. Discusión	31
vi.i.vi. Conclusión	33
vi.i.vii. Referencias	35
Capitulo II. Respuesta de las plantas de fresa (<i>Fragaria x ananassa</i> Duch) cultivadas con diferentes concentraciones de nitrógeno, a la inoculación con <i>Glomus intraradices</i> .	
vi.ii.i. Resumen	38
vi.ii.ii. Introducción	39

vi.ii.iii. Materiales y Métodos	41
vi.ii.iv. Resultados	44
vi.ii.v. Discusión	52
vi.ii.vi. Referencias	56
Capítulo III. Calidad de frutos de plantas de fresa (<i>Fragaria x ananassa</i> Duch) micorrizadas con <i>Glomus intraradices</i> y fertilizadas con diferentes concentraciones de nitrógeno.	
vi.iii.i. Resumen	60
vi.iii.ii. Introducción	62
vi.iii.iii. Materiales y Métodos	64
vi.iii.iv. Resultados	69
vi.iii.v. Discusión	78
vi.iii.vi. Conclusión	85
vi.iii.vii. Referencias	87
vii. Referencias Generales	94
viii. Discusión General	96
ix. Sugerencias	99

RESUMEN GENERAL

La fresa es uno de los cultivos más rentables y más importantes en Michoacán, sin embargo en este estado presenta algunos problemas como el uso excesivo de fertilizantes nitrogenados y el rendimiento inferior al obtenido en otras entidades del País. La hidroponía es una técnica que permite mejorar el rendimiento de los cultivos y los hongos micorrizicos arbusculares (HMA) son microorganismos que asociados a las raíces les proporcionan a las plantas múltiples beneficios, como la promoción del crecimiento vegetativo y la adquisición de micronutrientes del suelo, entre ellos el N, sin embargo, se ha documentado que sus efectos sobre la planta hospedero, dependen de las características del suelo en donde se realiza la asociación, entre ellas, el nivel de fertilización. Por ello, la hipótesis de este trabajo fue que *Glomus intraradices* modifica el estado nitrogenado de las plantas de fresa en estado productivo y su efecto sobre la producción de biomasa y la calidad de los frutos depende de la fertilización nitrogenada. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la concentración de N en la solución de riego sobre la producción de biomasa, la acumulación de N en la planta y la calidad de los frutos de plantas de fresa crecidas en hidroponía e inoculadas con *G. intraradices*. Se establecieron dos experimentos en invernadero, el primero para seleccionar la proporción de fibra de coco (C):agrolita (A), que fuera el más adecuado para el crecimiento de las plantas micorrizadas (PM) y el segundo para evaluar el efecto de la fertilización nitrogenada sobre la producción de biomasa y la calidad de los frutos. En ambos se emplearon plantas de fresa cv. Aromas y el HMA *G. intraradices*. En el primer experimento se evaluaron las proporciones 0C4A, 1C3A, 2C2A y 3C1A y las plantas se fertilizaron con solución nutritiva completa 3 mM de N. Se determinó el efecto de cada factor y su interacción sobre el área foliar (AF), el peso fresco (PF), seco (PS) y contenido de agua (CA) de hojas (H), corona (CO) y parte aérea (PA). En el segundo, las plantas se establecieron en el sustrato seleccionado y se aplicaron las concentraciones 0.0, 0.03, 0.3, 3.0, 6.0 y 18 mM de N en la solución de riego y el análisis de los resultados se dividió en dos partes. En la primera, se midió el AF, el peso seco de hojas (PSH), el peso seco de la planta total (PST) y el peso fresco de los frutos (PFF) y se calculó la relación: PSH: peso seco parte aérea (PSPA) a los 48 y 155 días después del

establecimiento. Se determinó también el estado nitrogenado de las plantas, para lo cual se construyeron las curvas de N crítico de PM y plantas no micorrizadas (PNM). En la segunda, se determinó la calidad de los frutos, para lo que se midieron: el peso (P), el diámetro (D), la longitud (Lo), algunos parámetros del color como la luminosidad, el matiz, la cromaticidad y la absorbancia a 500 nm. También se midieron la acidez total (AT), los grados Brix, los contenidos de glucosa, fructuosa, sacarosa, de macro (MAE) y micro elementos (MIE) (K, Na, Ca, Mg, Cu, Fe, Zn y Mn) y de fenoles totales (FT) y compuestos fenolicos (CF) (ácidos gálico, p-cumárico, elágico y ferúlico, kuromanin, callistephin, quercetina, catequina y kaempferol). Los resultados del primer experimento demostraron que la proporción de C:A en el sustrato y la interacción sustrato micorrización tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$, LSD) en la mayoría de las variables evaluadas y la micorrización lo tuvo principalmente en el CA de los órganos. En el segundo experimento se determinaron diferencias significativas ($p < 0.05$, LSD) entre PM y PNM, en el AF de las plantas fertilizadas con 3.0 mM de N a los 48 y 155 días, en el PSH de las plantas fertilizadas con 0.0 y 0.3 a los 48 días y 3.0 mM en las dos fechas de muestreo. A los 48 días también se determinaron diferencias significativas entre el PST de las PM y PNM fertilizadas con 0.0, 0.30 y 3.0 mM de N. La relación PSH: PSPA fue diferente para las PM y PNM, fertilizadas con 3.0 mM de N, en la segunda fecha de muestreo. En relación a la curva de N crítico, la micorrización modificó el estado nitrogenado de las plantas de fresa en la mayor parte del desarrollo del cultivo. Con respecto a la calidad de los frutos, el P, el D y la Lo, no fueron modificados por ninguno de los dos factores evaluados, ni su interacción. Los parámetros del color fueron modificados principalmente por la micorrización; la AT y los contenido de azúcares, por la concentración de N en la solución de riego y los contenidos de MAE y MIE por la concentración de N en la solución de riego y la interacción de ambos factores. Y finalmente, los contenidos de la mayoría de los CF fueron modificados significativamente por los dos factores evaluados y su interacción. Estos resultados muestran el HMA modifiko el estado nitrogenado de las plantas y que su efecto sobre el crecimiento y la calidad de los frutos estuvo afectada por la concentración de N en la solución de riego.

SUMMARY

The strawberry crop is one of the most important in Michoacan, Mexico. Although it is one of the most profitable have some problems as reduce productions and the excessive use of nitrogenous fertilizers. Hydroponic and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are technique that permits to obtain high crops productions. The AMF, are microorganisms that associates with roots provide greate benefits to plants, as the growth vegetative promotion and the nutrient acquisition of soil, like Nitrogen (N). Nevertheless, the effect of the AMF in the host plant depends of some soil characteristics where the association is carried out, like the fertilization level. For this, the hypothesis of this work was, *Glomus intraradices* modifies the strawberry plants nitrogen status in its productive stage and that, the effect on the biomass production and quality fruits, is affected by the fertilization nitrogen. The objective of this work was evaluate the effect of *G. intraradices* and nitrogen fertilization interaction on biomass production, N plant accumulation and fruits quality, grown in hydroponic. Two experiments in greenhouse were established, the first for select coconut fiber (C): agrolite (A) proportion, that was the most adequate for mhycorrhizal plants growth and the second for evaluate nitrogen fertilization effect on the biomass production and fruit quality of these plants. In the experiments strawberry plants cv Aromas and AMF *G. intraradices* were utilized. In the first 0C4A, 1C3A, 2C2A and 3C1A proportions were evaluated, and the plants were fertilized whit 3 mM N complete nutritive solution. The effect of each factor and its interaction was determined above on leaf area (LA), fresh (FW) and dry weight (DW) and water contain of (WC) of leaves (L), crown (CO) and canopy (CA). In the second, the plants were established in the substrate selected in the first experiment and 0.0, 0.03, 0.3, 3.0, 6.0 and 18 mM N concentrations were applieded in the irrigation solution, the results analysis were separate in two. In the first , LA, leaves dry weight (LDW), total dry weight (TDW) and fruits fresh weight (FFW) were measured and LDW: canopy dry weight (CaDW) relation was calculated to 48 and 155 days after the establishment. The nitrogen status of the plants was determined also, for this N critical curves of mychorrhizal (MP) and no mychorrhizal plants (NMP) were elaborates. In the second the fruits physico-chemical quality was determined, the weight (W), diameter (D), length (l) of fruits and some color

parameters as brightness, shade, cromaticidad and the absorbancia to 500 nm were measured. Also total acidity (TA), Brix degrees, glucose content, fructose, sacarose, macro (MAE) and micro-elements (MIE) (K, Na, Ca, Mg, Cu, Fe, Zn and Mn), total phenols (TPh) and phenolic composed (CPh) (acid gallic, p-cumáric, elagic and ferulic, kuromanin, callistephin, quercetine, catequine and kaempferol) concentrations were measured. The results of the first experiment showed that C:A proportion in the substrate and the substrate-mycorrhiza interactions had significant effect ($p < 0.05$, LSD) in the majority of the variables evaluated the principal effect of HMA was in the organs WC. In the second experiment significant differences ($p < 0.05$, LSD) between MP and NMP were LA of the plants fertilized with 3.0 mM of N to 48 and 155 days, LDW of plants fertilized with 0.0 and 0.3 to 48 days and 3.0 mM in the two dates of sampling were obtained. To 48 days significant differences between TDW of MP and NMP fertilized with 0.0, 0.30 and 3.0 mM of N were obtained. The LDW: CaDW relationship was different for MP and NMP, fertilized with 3.0 mM N, in the second date of sample. Regarding to N critical curve, the mycorrhiza modified the strawberry plants nitrogen status in most of crop development. Regarding to fruits quality the W, D and L, were not modified by none of the two evaluated factors, neither their interaction. The AMF principally modified the color parameters; the TA and sugar by the N irrigation solution concentration and MAE and MIE contents by N irrigation solution concentration and the interaction of both factors. Finally, the majority of CPh contents were significantly modified by the two evaluated factors and their interaction.

INTRODUCCION GENERAL

Uno de los productos de gran importancia en la generación de empleos y divisas en nuestro país, es la producción de fresa. La planta de este fruto es de tipo herbáceo y perenne. Su sistema radicular es fasciculado, se compone de raíces y raicillas. El tallo está constituido por un eje corto de forma cónica llamado “corona”, en el que se observan numerosas escamas foliares. Las hojas aparecen en roseta y se insertan en la corona. Su limbo está dividido en tres folíolos pedunculados, de bordes aserrados, tienen un gran número de estomas ($300-400 \text{ mm}^{-2}$), por lo que pueden perder gran cantidad de agua por transpiración (Maroto, 1986). Las flores se agrupan en racimos, tienen de 5-6 pétalos, son hermafroditas, tienen de 25 a 35 estambres y varios cientos de pistilos, sobre un receptáculo carnoso. Lo que se conoce como fruta de fresa es en realidad un falso fruto, producto de engrosamiento del receptáculo floral; sobre ese falso fruto se encuentran gran cantidad de semillas pequeñas, que son frutos verdaderos llamados aquenios (Fig. 1).



Figura 1. Estructuras que conforma la planta de fresa

Su clasificación botánica es la siguiente:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Rosales

Familia: Rosaceae

Subfamilia: Potentilloideae

Género: *Fragaria*

Se conocen más de 20 especies de *Fragaria*, que varían en el número de cromosomas, mostrando una importante poliploidia. Las especies silvestres más comunes son diploides, exhibiendo dos juegos de siete cromosomas, otras son tetraploides o hexaploides y los híbridos más resistentes son octaploides y aún decaploides. Darrow (1966) ha señalado que las especies con más cromosomas tienden a ser más robustas y producir frutos de mayor tamaño.

El híbrido inter-específico *Fragaria x ananassa* Duch. se obtuvo a partir de *F. chiloensis* o fresón chileno, de los bosques templados de América y *F. virginiana* del este de Norteamérica, que producen grandes frutos (Sudzuki, 1983). El cultivar "Aromas" fue liberado en 1994 por el Programa de reproducción de la Universidad de California en Davis, es de fotoperíodo neutro y su etapa de producción es de julio a noviembre (León-Gallegos y Martínez-Téllez, 2004).

En el 2004, México fue el sexto productor mundial de fresa, con una participación del 5%, por lo que ocupó el cuarto lugar en el valor de las exportaciones mundiales de este fruto (Fuente: Informes de los talleres de Planeación Estratégica de la Cadena de Valor de fresa de Michoacán, Fundación PRODUCE, Michoacán, Agosto del 2004). La fresa se cultiva en cerca de 11 entidades del país, de las cuales, tres son

las que en los últimos años han concentrado superficie y producción, estos son: Guanajuato, Baja California y Michoacán, que contribuyen con el 95% tanto de la superficie sembrada como de la producción; Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, con información de las Delegaciones de la SAGARPA) y de enero a septiembre del 2005 productores de fresa de estos estados obtuvieron 102 millones de dólares por la exportación de 47 mil toneladas al mercado de Estados Unidos (Coordinación General de Promoción Comercial y Fomento a las Exportaciones de la SAGARPA).

En el año agrícola 2006, en Michoacán se cosecharon 3,117 Has que representaron el 48% de las cosechadas en el país, con una producción de 79 340 ton y con un valor de la producción aproximada de 390 millones de pesos (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, con información de las Delegaciones de la SAGARPA). Las principales zonas productivas son: Zamora, Jacona y Maravatío.

La importancia de este cultivo a nivel regional radica en los siguientes aspectos: 1) el gran número de empleos que genera en la época de cosecha, 2) Las diversas actividades que se dan en las empacadoras y 3) Las grandes inversiones que se canalizan para su producción, sobre todo si se considera que el cultivo de la fresa es una de las actividades más costosas, pero también de las más económicamente redituables.

De acuerdo a la información del INIFAP, el 70% de la producción de fresa de la región de Zamora se va a la Industria de congelados, bases y mermeladas, en cambio en la región de Maravatío, el 50% va al mercado de fruta fresca y el otro 50% a la industria, por lo que se concluye que el principal destino de la producción de fresa de Michoacán es la industria. Por lo anterior, Zamora ha venido desarrollando en los últimos años una importante infraestructura de transformación y de servicios, la cual aporta a la región una gran ventaja comparativa y competitiva en el procesamiento de bases y productos de frutas. El crecimiento de la industria de productos de fresa en la región de Zamora ha sido un importante motor para el impulso del cultivo de la fresa en Michoacán. El desarrollo de nuevos usos y productos, así como el crecimiento del mercado, indudablemente impulsaran el

crecimiento de la producción primaria de fresa en este estado (Fuente: Informes de los talleres de Planeación Estratégica de la Cadena de Valor de fresa de Michoacán, Fundación PRODUCE, Michoacán, Agosto del 2004).

No obstante la importancia de este cultivo, Michoacán no cuenta con el liderazgo de productividad a nivel nacional, si no que es superado por Baja California, quien tuvo un rendimiento promedio de 49 tonHa^{-1} , durante el período de 1999-2002, mientras que Michoacán presentó un rendimiento promedio durante este mismo período de 21 tonHa^{-1} . Esto originó que aunque este último fue el estado que presentó la mayor superficie nacional del cultivo (53%), participó con el 51% de la producción nacional, mientras que Baja California con el 10% de la superficie, participo con el 23% de la producción (Fuente: Informes de los talleres de Planeación Estratégica de la Cadena de Valor de fresa de Michoacán, Fundación PRODUCE, Michoacán, Agosto del 2004). En los ciclos agrícolas 2004, 2005 y 2006 el rendimiento del cultivo en Michoacán fue de 29.2, 26.16 y 26.41 tonHa^{-1} , respectivamente.

Además del inferior rendimiento, otros problemas que enfrenta el cultivo en el estado son, entre otros: 1) la baja calidad de la fruta debido a la inocuidad (no cumple con las normas de sanidad que demanda el mercado), ya que se utiliza agua insana para el riego, 2) el abatimiento de mantos acuíferos, debido a que en la mayoría de las zonas freseras se sigue regando en la forma tradicional y 3) el uso excesivo de fertilizantes nitrogenados (Plan rector, 2004), porque los agricultores con el propósito de obtener altos rendimientos y por carecer de información técnica sobre el uso y manejo de estos fertilizantes, lo adicionan al suelo de manera pletórica, llegando a aplicar dosis superiores a 600 KgHa^{-1} (Cárdenas et al, 2004), elevando con ello el costo del cultivo y provocando serios problemas de contaminación ambiental por la lixiviación del nitrógeno (N), principalmente nitratos, hacia los mantos freáticos.

La hidroponía es una técnica que empieza a ser utilizada en el estado, en este cultivo. Consiste en producir y cultivar plantas sin emplear suelo o tierra y algunas de sus ventajas son: 1) el crecimiento más rápido y vigoroso de las plantas debido a que el agua y los nutrientes están más disponibles, por lo que los rendimientos obtenidos superan a la producción en el suelo 2) un menor consumo de agua y fertilizantes, 3)

No contamina el medio ambiente y 4) se obtiene un producto más sano e higiénico. En los cultivos hidropónicos el suelo es reemplazado por materiales sólidos, llamados sustratos, que sirven como medio de crecimiento y su función principal es permitir el anclaje de las raíces y el soporte mecánico de la planta. El crecimiento de la raíz en sustrato es más rápido y vigoroso que en el suelo (Rodríguez, et al., 2004).

Los materiales usados como sustratos deben tener las siguientes características: 1) Elevada capacidad de retención del agua, 2) Suficiente suministro de aire, 3) Adecuado tamaño de partículas, que permitan un equilibrio agua-aire, 4) Baja densidad aparente (liviano), 5) De estructura estable, 7) Mínima velocidad de descomposición, 8) No debe liberar sustancias tóxicas para la planta y 9) Debe estar disponible. Por lo general, un solo material no reúne todas las características deseadas para ser un sustrato ideal, por lo que en muchos casos, es necesario realizar mezclas, en distintas proporciones, para adecuarlo a los requerimientos del cultivo. Entre los sustratos inorgánicos, uno de los más usados es la perlita (A), que se obtiene por calentamiento de roca volcánica en agua, la cual se expande para dar partículas livianas aireadas. Entre los orgánicos, se ha comprobado que la fibra de coco tiene características físicas y químicas adecuadas para usarse como medio de cultivo (Meerow, 1994). Cuando se mezcla con agrolita mejora su humectabilidad y porosidad de aire, de acuerdo a los niveles de fibra de coco que contenga, lo que le permite mantener un nivel satisfactorio de agua y también presenta menor compactación que otros materiales (Meerow, 1994; Prasad, 1997).

Con respecto al uso excesivo de fertilizantes nitrogenados, recientemente se establecieron modelos que muestran las relaciones que existen entre la acumulación de biomasa y de nitrógeno en diversos cultivos. Estas relaciones muestran la disminución del contenido de N en la materia seca de la planta a lo largo del ciclo de desarrollo, aún en condiciones de disponibilidad externa en N no limitada, por lo que han sido llamadas relaciones de dilución (Lemaire y Salette, 1984). Dichas relaciones están asociadas a la movilidad del N en la planta y a su exportación de los órganos senescentes hacia las regiones en estado de crecimiento activo (Caloin y Yu, 1984). A partir de las relaciones de dilución de N en un cultivo, se establece la curva de contenido crítico, que representa el contenido mínimo en N necesario para alcanzar

un máximo crecimiento en cualquier fase del desarrollo del cultivo (Justes et al, 1994). La curva de N crítico permite el diagnóstico del estado nitrogenado del cultivo en cualquier fase fenológica, en función de su biomasa seca y ofrece la posibilidad de estimar los aportes en caso necesario. Sin embargo, es importante señalar que las curvas de N crítico han sido elaboradas sin tomar en cuenta a los microorganismos asociados a la rizósfera, como es el caso de los HMA.

Las micorrizas son simbiosis mutualistas entre un hongo y la raíz de una planta hospedera. Existen varios tipos de micorrizas, de acuerdo a la localización y el tipo de colonización del hongo a la raíz del vegetal, pero la más común es la que realizan las raíces de muchas plantas superiores y los HMA, los que se ubican en el orden de los Glomales de la clase Zygomycetes. Estos hongos son simbioses obligados, sus esporas germinan en el suelo y colonizan las células corticales de la raíz de la planta huésped, no pueden cultivarse fuera de las raíces vivas de las plantas, por lo que dependen totalmente de ella. Se estima que más del 80% de las plantas terrestres forman este tipo de asociación y este porcentaje incluye muchas especies hortícolas de importancia agrícola (Smith y Read, 1997). *Glomus intraradices*, seguida de *G. mossae* han sido los más empleados en estudios de establecimiento, aclimatación y crecimiento de cultivos hortícolas, frutales y ornamentales (Niemi y Vestberg, 1992).

G. intraradices forma esporas redondeadas en el interior de las raíces de la planta hospedadora. La pared es de tipo amorfo presenta una capa externa evanescente y una o dos capas internas laminadas de color más oscuro. El grosor de la pared varía entre 3 y 15 Fm y se extiende hacia el pedúnculo de la espora en forma de tubo. El color de la espora puede variar desde amarillo hasta marrón claro. A pesar de que las esporas de *G. intraradices* se forman en el interior de la raíz, pueden encontrarse también grupos de esporas en el suelo, provenientes de la disgregación de una raíz (Schenck y Smith, 1982).

Los HMA generalmente incrementan el crecimiento de la planta y provocan que la planta dirija de un 4-20% más fotoasimilados hacia las raíces micorrizadas (Graham, 2000), por lo que se señala que el hongo obtiene la mayor parte del carbono que necesita para desarrollarse, si no todo, de la planta hospedero (Jennings, 1995). Por

su parte los HMA le confieren beneficios al hospedero, como: la resistencia al estrés hídrico y a patógenos (Harrier y Watson, 2004; Kaya et al, 2003), la tolerancia a los metales pesados (González-Guerrero, 2005; Pawlowska y Charvat, 2004) y contribuyen al mejoramiento de la textura del suelo, debido a que desarrollan con las raíces de la planta hospedero, una red de hifas extraradicales (Bethlenfalvay y Schuepp, 1994). Además, este micelio extraradical conecta a las raíces con el suelo que le rodea, por lo que la planta incrementa el volumen de suelo explorado, por lo que puede sobrevivir en zonas pobres de nutrimentos o deficientes de agua. Por lo anterior, estos hongos forman parte importante de los ecosistemas y tienen aplicaciones significantes en la agricultura sustentable (Schreiner y Bethlenfalvay, 1995). En condiciones de baja disponibilidad de nutrimentos, las raíces micorrizadas incrementan la adquisición de macro y micro elementos como P, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Zn y Mn, que se ha determinado, transfieren a la parte aérea de la planta (Azcón, et al, 2003; Clark y zeto, 2000), sin embargo, a la fecha poco se conoce sobre la acumulación de estos elementos y otros parámetros de calidad de los frutos de plantas micorrizadas.

Aunque la simbiosis generalmente es benéfica, se ha demostrado que algunas micorrizas pueden comensales o parásitas, dependiendo de la fisiología de la planta y de las condiciones ambientales (Graham & Eissenstat, 1998, Jonson et al, 1997; Hendrix et al, 1992). Esta respuesta es influenciada por 3 factores: el grado de micorrización de la planta, la eficiencia simbiótica de el HMA y el estado nutricional de el suelo o el medio de crecimiento. Diferentes especies y cepas varían considerablemente en los beneficios que confieren a la planta hospedero. Estos beneficios están menos influenciados por la combinación hospedero-endófito que por el suelo en donde se lleva a cabo la asociación, un efecto descrito por Mosse (1973) como especificidad. Hayman et al (1985) inocularon con nueve especies de HMA plantas de fresa que crecieron en suelos con diferentes pH. Sus resultados demostraron que la respuesta de la planta a la asociación con los diferentes HMA fue diferente significativamente, dependiendo del pH del suelo en donde se llevó a cabo la asociación. Otro de los factores importantes en la asociación HMA- planta hospedero es la concentración de N en el suelo. A este respecto, Bago et al. (1996)

demonstraron en cultivo monoaxenico la capacidad del micelio extraradical de *Glomus intraradices* para adquirir NO_3^- y alterar el pH del medio. Además, Govindarajulu et al (2005), mostraron en cultivo in vitro de raíces de zanahoria (*Daucus carota* L.) colonizadas con *G. intraradices*, que el N inorgánico adquirido por el hongo en el exterior de la raíz, se incorpora como aminoácidos y es traslocado del micelio extraradical al intraradical como arginina y transferido a la planta.

Johansen et al. (1994) cultivaron *Cucumis sativus* L. cv Aminex inoculada y no inoculada con *G. intraradices*. Las plantas fueron fertilizadas con tres concentraciones de N. Los resultados mostraron que las plantas micorrizadas (PM), incrementaron su peso seco independientemente de la concentración de N aplicada. Contrario a estos resultados Azcón et al. (2003) inocularon con *G. mosseae* plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) fertilizadas con 1, 5 y 9 mM de N y 0.1 y 0.5 mM de P. Sus resultados indicaron que la masa seca de la parte aérea de las PM no fue modificada significativamente cuando se fertilizaron con las concentraciones más altas de N y P. Sin embargo, existió una respuesta a la micorrización en esta variable, cuando la fertilización se realizó con 9 mM de N y 0.1 mM de P. Resultados similares obtuvieron en cuanto a la adquisición de MAE y MIE por las PM, cuando se aplicaron concentraciones bajas de P y altas de N. Estos investigadores demostraron que bajo las condiciones evaluadas, el efecto benéfico de la micorrización en el crecimiento y la nutrición de las plantas se observó únicamente en las concentraciones limitantes no solamente de P sino también de N y sugieren que la fertilización puede reducir y aún eliminar el beneficio de la micorriza hacia la planta hospedero.

En las plantas de fresa se han realizado diversos trabajos en relación con su asociación con los HMA. Así, se ha evaluado su efecto en la producción de materia seca, flores y frutos (Niemi y Vestberg, 1992, Chávez y Ferrera-Cerrato, 1990), en la producción de estolones y plantas hijas (Alarcón et al., 2000) y sobre la fotosíntesis y la concentración de aminoácidos, cuando las plantas crecen en condiciones de déficit hídrico (Hernández-Sebastial et al. 2000, Borkowska B., 2002). Sin embargo, estas investigaciones se han realizado en plantas in vitro y anterior a este trabajo poco se conoce de la interacción HMA-plantas de fresa en etapa productiva y del efecto de la

fertilización nitrogenada sobre esta asociación y sobre el crecimiento, la acumulación de N en la planta y la calidad físico-química de los frutos de fresa.

Debido a que la hidroponía es una técnica que permite mejorar el rendimiento de los cultivos y disminuir las cantidades de fertilizantes aplicados, la curva de N crítico es una herramienta que nos permite diagnosticar el estado nitrogenado de la planta a lo largo de su desarrollo y los HMA son asociaciones simbióticas que generalmente les proporcionan beneficios a las plantas hospederos, como el incremento del crecimiento y la mayor adquisición de nutrientes (entre ellos el N) y que estos beneficios pueden ser afectados por el suelo y la fertilización nitrogenada. Se estableció la siguiente hipótesis.

HIPOTESIS

Glomus intraradices modifica el estado nitrogenado de las plantas de fresa en estado productivo y su efecto sobre la producción de biomasa y la calidad de los frutos, es afectado por la fertilización nitrogenada.

OBJETIVO GENERAL

El objetivo general de este trabajo fue evaluar el efecto de la fertilización nitrogenada y la inoculación con *G. intraradices*, en el crecimiento, la acumulación de N en la planta y la calidad de los frutos de plantas de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.), cultivadas en hidroponía.

OBJETIVOS PARTICULARES

Los objetivos particulares fueron:

- 1) Seleccionar como sustrato la mezcla de fibra de coco: agrolita, en donde las plantas de fresa obtuvieran su mejor desarrollo.
- 2) Determinar el efecto de la interacción HMA-fertilización nitrogenada sobre la producción de biomasa de las plantas de fresa.
- 3) Evaluar el efecto del HMA en la acumulación de N en las plantas de fresa, para lo cual se construyeron las curvas de N crítico, para plantas micorrizadas y no micorrizadas.
- 4) Analizar el efecto de la concentración de N, la micorrización y la interacción de ambos factores, sobre la calidad físico-química de frutos de plantas de fresa cv. Aromas.

RESULTADOS

CAPITULO I

SELECCIÓN DE UN SUSTRATO PARA EL DESARROLLO DE PLANTAS DE FRESA MICORRIZADAS, EN HIDROPONÍA.

RESUMEN

La fresa empieza a cultivarse en hidroponia en Michoacán y frecuentemente se utiliza la agrolita (A) como sustrato, aunque se sabe que la fibra de coco (C) también puede usarse. Los hongos micorrizicos arbusculares (HMA) generalmente incrementan el crecimiento de la planta con que se asocian, sin embargo, esto es modificado por el suelo en donde la planta crece. Poco se conoce del efecto del sustrato sobre la asociación HMA-planta de fresa y se sugiere que la proporción C:A modifica la contribución del HMA en estas plantas. El objetivo fue seleccionar la proporción C:A, en el que las plantas micorrizadas (PM) tuvieran mejor desarrollo. Para ello se establecieron PM y no micorrizadas (PNM) con *Glomus intraradices*, en cuatro proporciones de C:A, se evaluaron el porcentaje de segmentos de raíces micorrizadas (PSRM), el área foliar (AF), el peso fresco (PF), seco (PS) y contenido de agua (CA) de hojas (H), corona (CO) y parte aérea (PA). Los resultados indicaron que: a) el incremento de C disminuyó el PSRM, b) el sustrato modificó ($p < 0.05$, LSD) el AF, el PF y el PS de las H, la CO y la PA y la micorrización el CA de los mismos, c) La interacción sustrato-micorriza modificó significativamente las variables evaluadas y d) el PF y el PS de los órganos y PA de las PM fue mayor en las cultivadas en 1C3A, por lo que este sustrato fue seleccionado. Esto demuestra que el sustrato modificó el efecto del HMA y el mayor CA sugiere que las PM acumulan solutos en sus vacuolas, reducen el potencial hídrico y retienen más agua, por lo que resisten el estrés hídrico.

Palabras clave: hidroponia, sustrato, planta de fresa, *Glomus intraradices*, fibra de coco.

ABSTRACT

Strawberry is beginning to be cultivated in hidroponics in Michoacan and perlite (Agrolita) (A) is often utilized as substrate, although is known that coconut fiber (C) can also be used. The arbuscular mychorrizal fungi (AMF) generally increase the plant growth with which they associate, nevertheless, this effect is modified by the soil where plants grow. Little its known concerning the effect of the subtrate on the AMF-strawberry plant association and is suggested that C:A proportion modifies the AMF contribution in these plants. The objective of this work was to select the C:A proportion, in which the mycorrhizal plants (MP) had the best development. For this MP and non micorrhizal plants (NMP) with *Glomus intraradices* were established, in four proportions C:A, the michorrhizal roots segments (MRS), leaf area (LA), fresh weight (FW), dry (DW) and leaves (LWC), crown (CWC) and canopy (CaCW) water content were evaluated. The results indicated that: a) increasing the C content decreased the MRS, b) the substrate modified ($p < 0.05$, LSD) LA, FW, DW of leaves, crown and canopy and AMF modified LWC, CWC and CaCW. c) The substrate-mycorrhiza interaction modified significantly the evaluated variables and d) the FW and DW of organs and canopy of MP was higher 1C3A cultivated plants. For this reason, this substrate was selected for further experiments. The results showed that substrate modified the AMF effect and the high CW suggests that MP accumulate solutes in the vacuole, decrease the water potential and retain more, so that they may be more resistant to water stress.

Keywords: hidroponic, substrate, strawberry plant, *Glomus intraradices*, coconut fiber.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de la fresa es uno de los más importantes en el estado de Michoacán. En el año agrícola 2006 se cosecharon 3 117 hectáreas que produjeron 79 340 toneladas, con un valor de 390 millones de pesos (SIAP, con información de las delegaciones de la SAGARPA). La mayor parte de la superficie cultivada con fresa en Michoacán se establece en el sistema de producción tradicional, aunque en los últimos años se han introducido las técnicas de acolchado, fertirriego y microtúnel. La producción en hidroponía, en donde el suelo se sustituye con sustratos, también comienza a ser utilizada. Los sustratos más usados en los sistemas hidropónicos son: turba (peat moss), arena de río, perlita, etc., sin embargo se ha comprobado que la fibra de coco (C) tiene características físicas y químicas adecuadas para usarse como medio de cultivo (Meerow, 1994). Cuando se mezcla con agrolita (A) mejora su humectabilidad y porosidad de aire, de acuerdo a los niveles de C que contenga. Esto le permite mantener un nivel satisfactorio de agua, fácilmente disponible y también presenta menor compactación que otros materiales (Meerow, 1994; Prasad, 1997).

Los HMA son simbiosis entre un hongo y la raíz de una planta hospedero, usualmente benéficas para la planta y para el microbionte (Mosse y Hayman, 1971). Los HMA poseen una amplia gama de funciones y aplicaciones, por lo que se conocen como fertilizantes biológicos (Azcón y Barea, 1980) y su influencia en la productividad de agrosistemas sustentables ha sido documentada (Smith y Read, 1997). También se ha documentado su influencia en la absorción de nitrógeno (N) y en la resistencia de las plantas al estrés hídrico (Hernández-Sebastia, 2000; Ruíz-Lozano, 1995).

Por otro lado, existen reportes que señalan que el efecto de las micorrizas, es dependiente de la fisiología de la planta, de las condiciones ambientales (Graham & Eissensat, 1998) y/o las condiciones del suelo en donde las plantas crecen (Hayman, et al, 1985). En hidroponía uno de los sustitutos del suelo es el sustrato, por lo que se sugiere, que la respuesta de la planta a la colonización micorrizica, es afectada por el sustrato en que la planta crece.

En cultivos hortícolas las investigaciones sobre sustratos se han encaminado principalmente a la germinación de semillas y no al crecimiento y desarrollo de la planta y en particular, en el cultivo de la fresa, existe poca información sobre el empleo de la C como sustrato y a la fecha no existen reportes sobre el efecto que éste puede tener sobre el crecimiento y desarrollo de plantas de fresa micorrizadas. Además, la interacción de los HMA con plantas de fresa sólo se ha estudiado en plántulas “In vitro” (De Silva et al., 1996; Hernández-Sebastia et al, 2000), pero no en plantas en etapa productiva.

Por lo anterior el objetivo de este trabajo fue: seleccionar como sustrato la mezcla C:A en el que las plantas de fresa micorrizadas, en etapa productiva, tuvieran el mejor desarrollo.

MATERIALES Y METODOS.

El experimento se estableció de Julio-Diciembre del 2003, en un invernadero tipo malla sombra, ubicado en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH), en Morelia, Michoacán, México.

Se utilizaron plántulas de fresa (cultivar "Aromas") provenientes de un vivero de Zamora, Michoacán. Previo a la plantación, se verificó la ausencia del AMF en el interior de las raíces, (Kormanick y McGraw, 1982). Las raíces de las plántulas se desinfectaron, previo al trasplante, sumergiéndolas durante 30 seg. en una solución de hipoclorito de sodio al 2% (v/v). Posteriormente se enjuagaron con agua de la llave y se colocaron en bolsas negras de plástico de 300 ml, que contenían el sustrato estéril.

Los sustratos utilizados fueron mezclas de C y A en las proporciones: cero partes de C y 4 partes de A (0C4A), 1 parte de C y 3 partes de A (1C3A), 2 partes de C y 2 partes de A (2C2A) y 3 partes de C y 1 parte de A (3C1A). Todos fueron esterilizados a 120°C, 1 lb de presión, 1 h.

El inóculo fue proporcionado por el Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas de la UMSNH. Se preparó con el HMA *Glomus intraradices* crecido en cultivo axénico, en el medio mínimo de Bécard y Fortín (1988), el cual ha sido utilizado como medio de crecimiento estándar para el establecimiento y el mantenimiento de clones de raíces de zanahoria (*Dacus cartota* L.). La composición del medio fue (mg L⁻¹): 731, MgSO₄.7H₂O; 80, KNO₃; 65, KCl; 4.8, KH₂PO₄; 288, Ca (NO₃)₂.4H₂O; 8 NaFe, EDTA; 0.75, KI; 6, MnCl₂.4H₂O; 2.65, ZnSO₄.7H₂O; 1.5, H₂B₃O₃; 0.13, CuSO₄.5H₂O; 0.0024, Na₂MoO₄.2H₂O; 3.0, glicina; 0.1, tiamina hidroclicada; 0.1, piridoxina hidroclicada; 0.5, ácido nicotínico; 50.0, myo-inositol y 1000 sacarosa. El pH se ajustó a 5.5 con HCl 1 N y se le adicionó 0.4% de Gel Gro (1 CN biomedical) como agente gelificante antes de esterilizar el medio a 121 °C, durante 15 min.

La inoculación se realizó al momento de la plantación con 80 esporas planta⁻¹. A los 15 días después de la plantación se realizó un muestreo para comprobar la presencia del HMA en el interior de las raíces (Kormanick y McGraw, 1982), mediante la observación al microscopio de las vesículas. El porcentaje de segmentos de raíces micorrizadas (PSRM) se estimó con el método del “gridline” (Giovannetti y mosse, 1980).

El experimento fue un diseño factorial completamente al azar, con dos factores: 1) inoculación: plantas micorrizadas (PM) y no micorrizadas (PNM) y 2) el sustrato: 0C4A, 1C3A, 2C2A, 3C1A. La combinación de estos factores originó 8 tratamientos, los cuales fueron repetidos 4 veces, generando 32 unidades experimentales, con 4 plantas cada una. El riego se realizó conforme a los requerimientos del sustrato con una solución nutritiva 3.0 mM de N, completa, de composición (mg L⁻¹): 40.83, KH₂PO₄; 235.24, K₂SO₄; 354.23, Ca(NO₃)₂.4H₂O; 344.34, CaSO₄.2H₂O; 369.71, MgSO₄.7H₂O. Durante todo el experimento, la concentración de fósforo en la solución de riego fue de 0.3 mM, EDTA-Fe.1H₂O, 53 ppm y la concentración de microelementos fue: B, 0.22 ppm; Cu, 0.03 ppm; Fe, 0.6 ppm; Mn, 0.64 ppm; Mo, 0.027 ppm; Zn, 0.212 ppm. El pH se ajustó a 5.5, antes de cada riego.

A los 60 días después de la plantación, para permitir el mejor desarrollo de las plantas, se realizó el transplante a bolsas negras de 3l que contenían el sustrato estéril, correspondiente. Las variables evaluadas fueron: el AF, PF, PS y CA foliar y PF, PS y CA de agua de la corona, con estos datos, se calcularon el PF, PS y CA de la PA. El AF se midió de manera no destructiva a los 20, 30, 38, 45, 52, 60, 80, 115 y 140 días después de la plantación. Para ello, se tomaron fotografías de las hojas de cada planta con una cámara digital (Sony, MVC-FD73) y se utilizó el freeware ImageJ para su estimación. Las demás variables se evaluaron a los 140 días después de la plantación. Los resultados para cada variable son el promedio de 4 repeticiones por tratamiento. Se determinó el efecto de cada factor, así como su interacción. A los resultados se les aplicó el análisis de varianzas (ANOVA) y cuando se determinaron diferencias significativas (p<0.05) se aplicó la prueba de LSD. Todo esto con el software SYSTAT para Windows versión 9.01.

RESULTADOS.

Los resultados se presentan únicamente para los sustratos 0C4A, 1C3A y 3C1A, debido a que la mayoría de las plantas que se cultivaron en el sustrato 2C2A, se murieron. El PSRM fue de 63%, 24% y 18 % para los diferentes tratamientos, respectivamente.

En las fig 1 se muestra el efecto del sustrato, la micorrización y la interacción de ambos factores sobre el AF de plantas de fresa, durante las 10 fechas de muestreo. En la 1a se observa que el AF de las plantas que crecieron en el sustrato 0C4A fue menor posterior a los 80 días después de la plantación y a los 140 días fue diferente significativamente al de las plantas que se cultivaron en los sustratos 1C3A y 3C1A, que fueron iguales entre sí.

El AF de las PM fue menor que el de las PNM hasta los 80 días después de la plantación, sin embargo, este efecto se reinvirtió a los 140 días, aunque sin diferencia significativa entre ambos tratamientos (Fig. 1b). En la fig. 1c se muestra que el AF de las PNM cultivadas en el sustrato 0C4A fue menor y diferente significativamente al de las plantas que se sometieron a los otros tratamientos. En la misma figura se observa que posterior a los 80 días después de la plantación el AF de las PM crecidas en el sustrato 1C3A fue mayor que el de las PNM cultivadas en el mismo sustrato, sin embargo, no sucedió lo mismo en las plantas que crecieron en el sustrato 1C3A, en donde las PNM tuvieron mayor AF que el de las PM, aunque en ambos casos, no existió diferencia significativa entre los tratamientos (Fig. 1c).

En la fig. 2 se presenta el efecto del sustrato sobre el PF, el PS y el CA de las H, la CO y la PA de plantas de fresa, a los 140 días después de la plantación.

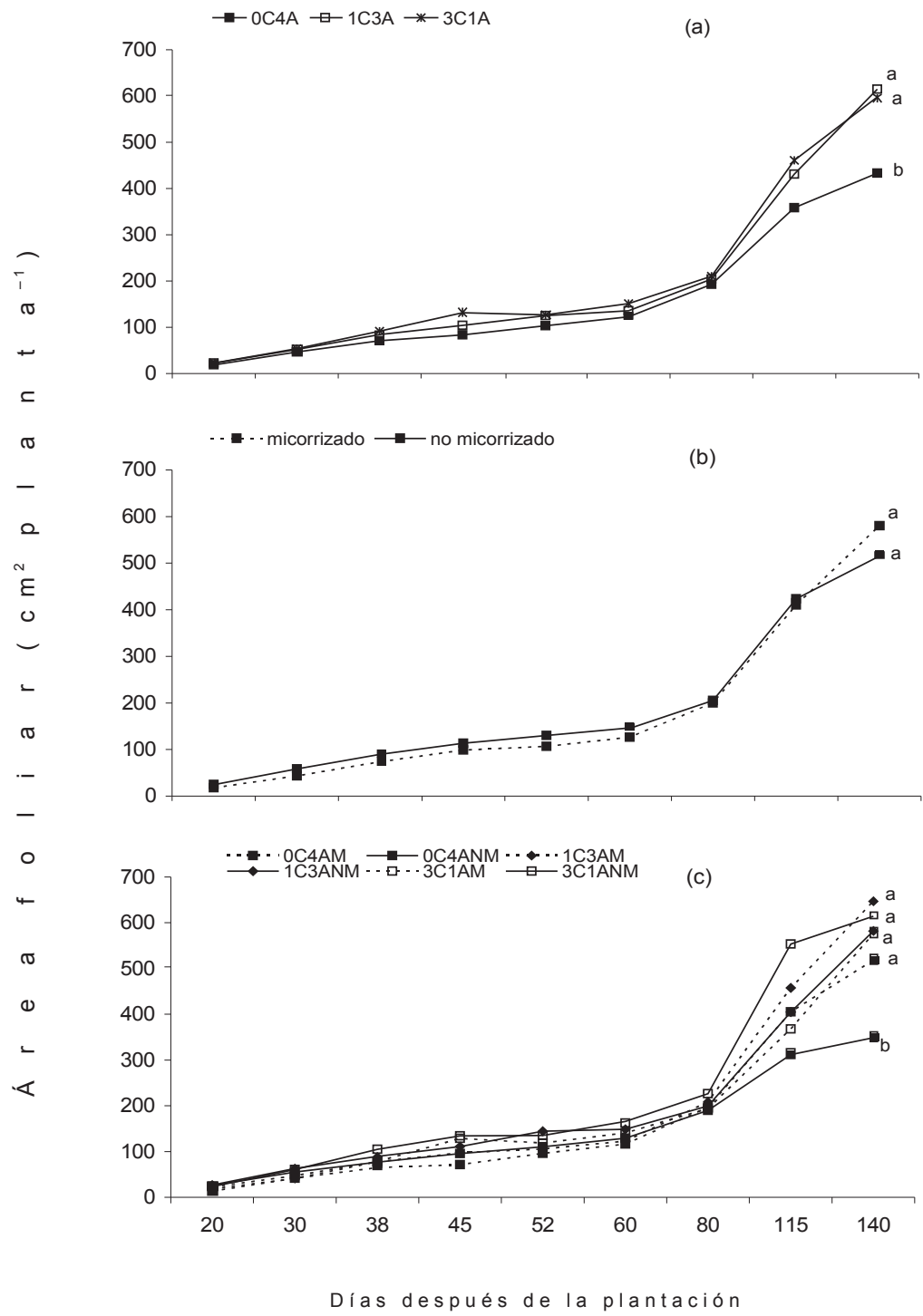


Fig. 1. Área foliar de plantas de fresa: a) efecto del sustrato, b) efecto de la micorrización, c) efecto de la interacción sustrato-micorrización. Letras diferentes indican diferencia significativa, $p < 0.05$, entre los diferentes tratamientos. LSD, $n = 4$.

En las figs. 2a y 2b se observa que el PF y el PS de las H de las plantas cultivadas en el sustrato 0C4A fueron menor y diferente significativamente al de las plantas que crecieron en el sustrato 1C3A y 3C1A, que fueron iguales entre sí y que el PF y PS de la CO y de la PA de las plantas que crecieron en el sustrato 1C3A fue mayor y diferente significativamente al de las plantas cultivadas en los otros dos sustratos. El CA de las H, CO y PA fue igual en todas las plantas independientemente del sustrato en que se cultivaron (Fig. 2c).

En las fig. 3 se muestra el efecto de la micorrización sobre el PF, el PS y el CA de las H, la CO y la PA de plantas de fresa, a los 140 días después de la plantación. El PF y el PS de los diferentes órganos fue igual para las PM y PNM (Figs 3a y 3b), sin embargo, el CA fue mayor y diferente significativamente en las H, CO y PA de las PM que en los mismos órganos de las PNM (Fig. 3c).

En la fig 4 presenta el PF, el PS y el CA de las H de las PM y PNM, cultivadas en los diferentes sustratos, a los 140 días después de la plantación. En las figs. 4a y 4b se observa que el PF y PS de las H de las PNM que crecieron en el sustrato 0C4A fueron menores y diferentes significativamente a las mismas variables de las plantas de los otros tratamientos. El CA de las H de las PM fue mayor y diferente significativamente al de las PNM cuando crecieron en el sustrato 0C4A (Fig. 4c).

En la fig. 5 se muestra el efecto de la interacción sustrato-micorrización sobre el PF, el PS y el CA de la CO de las plantas de fresa, a los 140 días después de la plantación. El PF y el PS de la CO fue igual para PM y PNM cuando se cultivaron en el mismo sustrato, sin embargo los valores de estas variables fueron mayores en las plantas cultivadas en el sustrato 1C3A (Fig. 5a y 5b). El CA de la CO de las PM fue mayor y diferente significativamente al de las PNM cuando crecieron en el sustrato 0C4A y 1C3A (Fig. 5c).

En las fig. 6 se observa el efecto de la interacción de los factores evaluados sobre el PF, el PS y el CA de la PA de plantas de fresa. El PF y el PS de la PA de las PNM cultivadas en el sustrato 0C4A fue menor y diferente significativamente al de las plantas de los otros tratamientos (Figs. 6a y 6b). El CA de las PM fue mayor y

diferente significativamente al de las PNM cuando se cultivaron en los sustratos 0C4A y 1C3A (Fig. 6c).

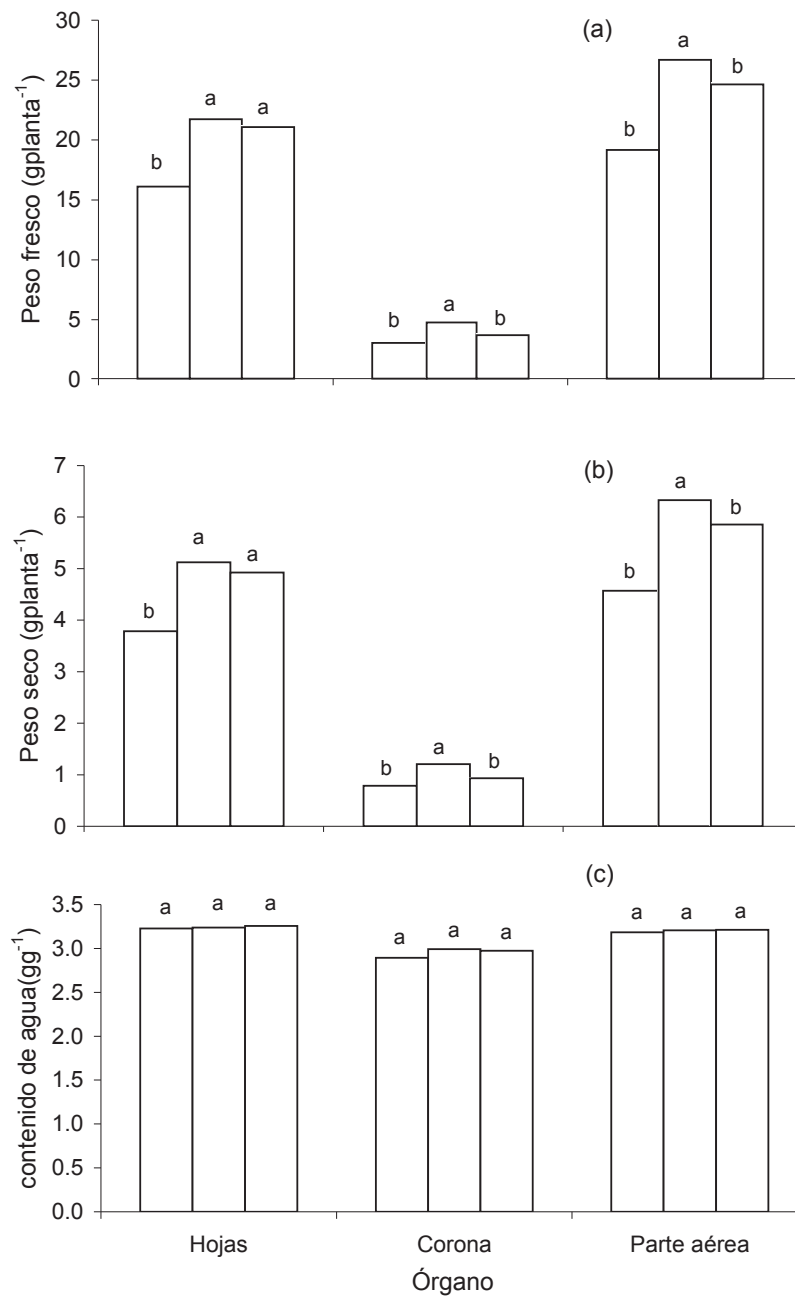


Fig. 2. Efecto del sustrato sobre el peso fresco (a), peso seco (b) y contenido de agua (c) de hojas, corona y parte aérea de plantas de fresa, a los 140 días después de la plantación. Líneas diagonales=0C4A, líneas verticales=1C3A, líneas horizontales=3C1A. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el mismo órgano de las plantas crecidas en diferentes sustratos. LSD, $n=4$.

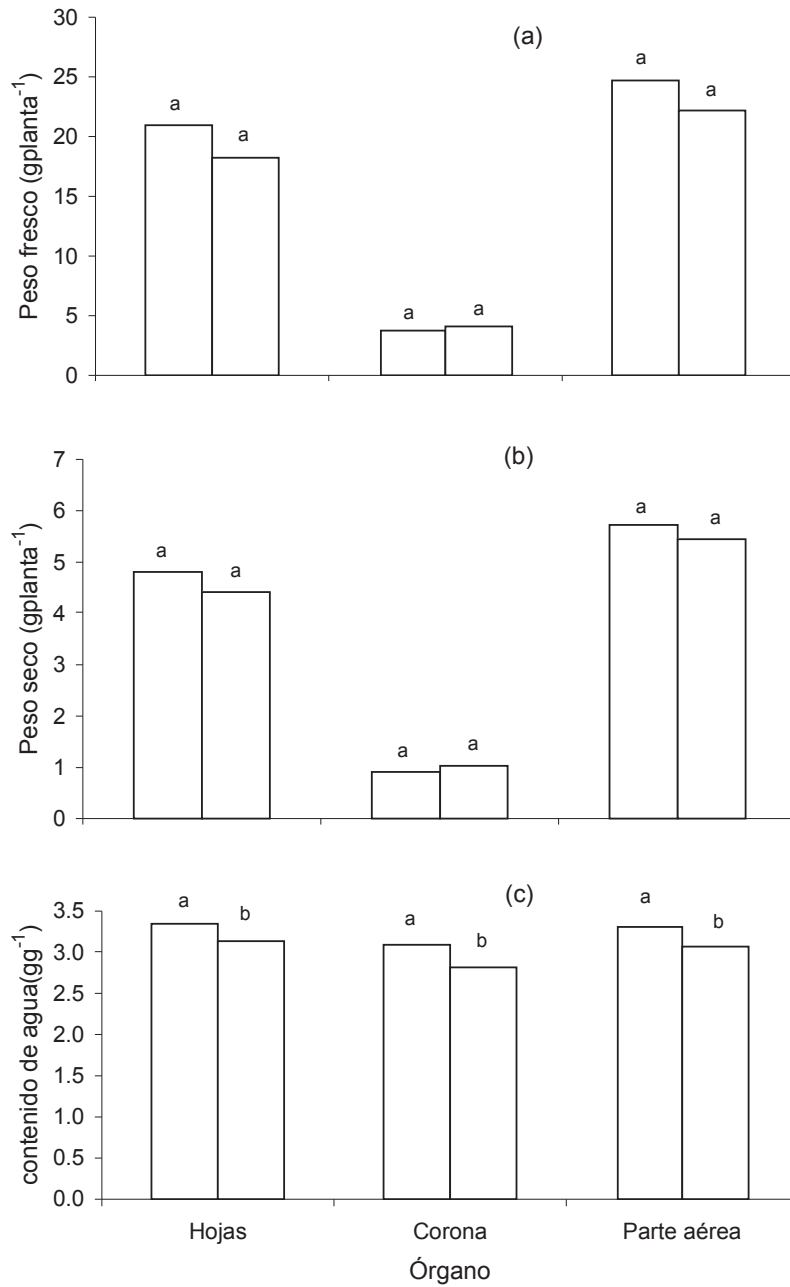


Fig. 3. Efecto de la micorrización sobre el peso fresco (a), peso seco (b) y contenido de agua en hojas, corona y parte aérea, de plantas de fresa, a los 140 días después de la plantación. Líneas diagonales= Plantas micorrizadas, Líneas verticales= Plantas no micorrizadas. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre plantas micorrizadas y no micorrizadas, LSD, $n=4$.

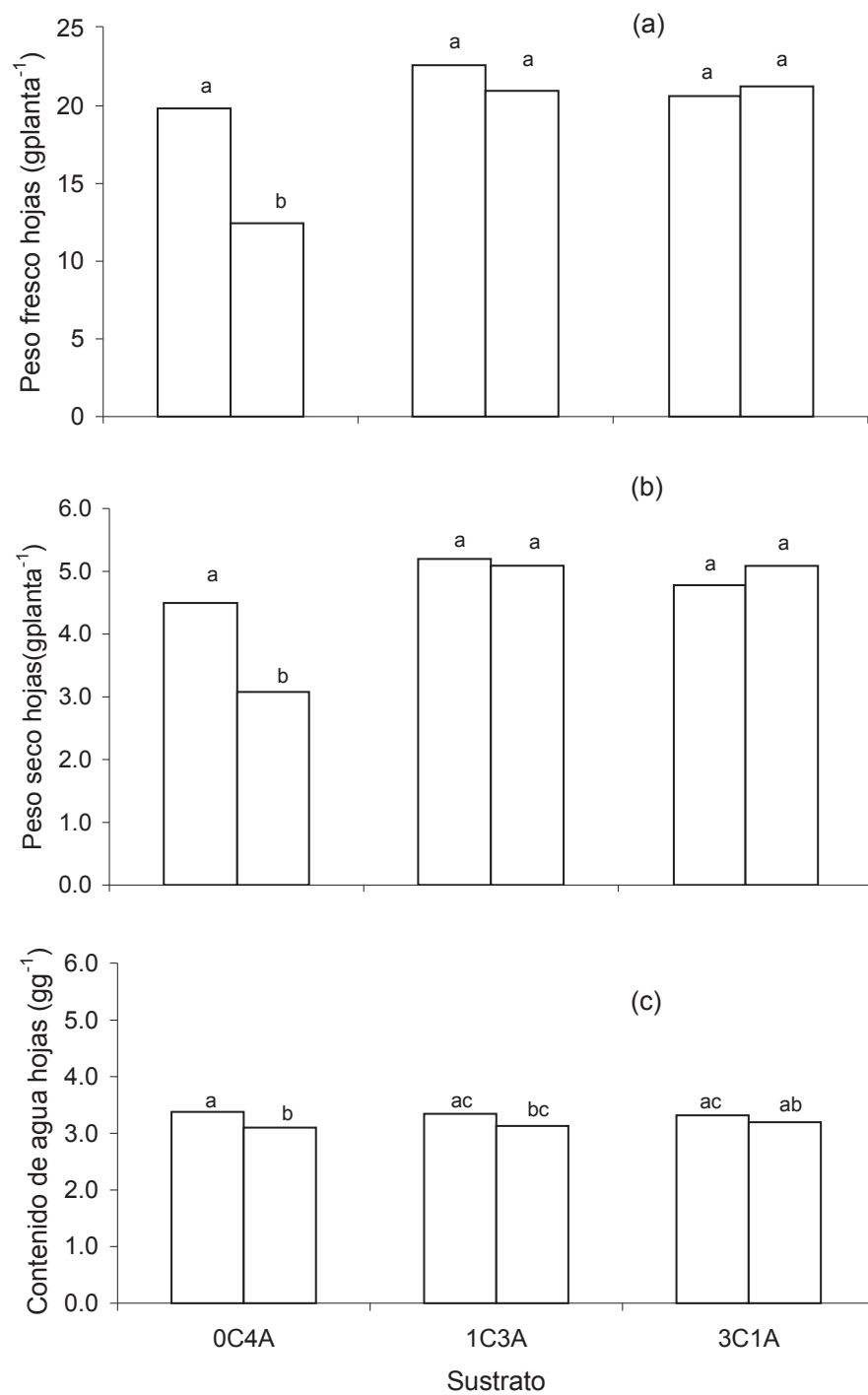


Fig. 4. Efecto de la interacción sustrato-micorrización sobre el peso fresco (a), peso seco (b) y contenido de agua (c) de las hojas de plantas de fresa, a los 140 días después de la plantación. Líneas diagonales= plantas micorrizadas, líneas verticales= plantas no micorrizadas. Letras diferentes indican diferencias significativas entre todos los tratamientos. LSD, n=4.

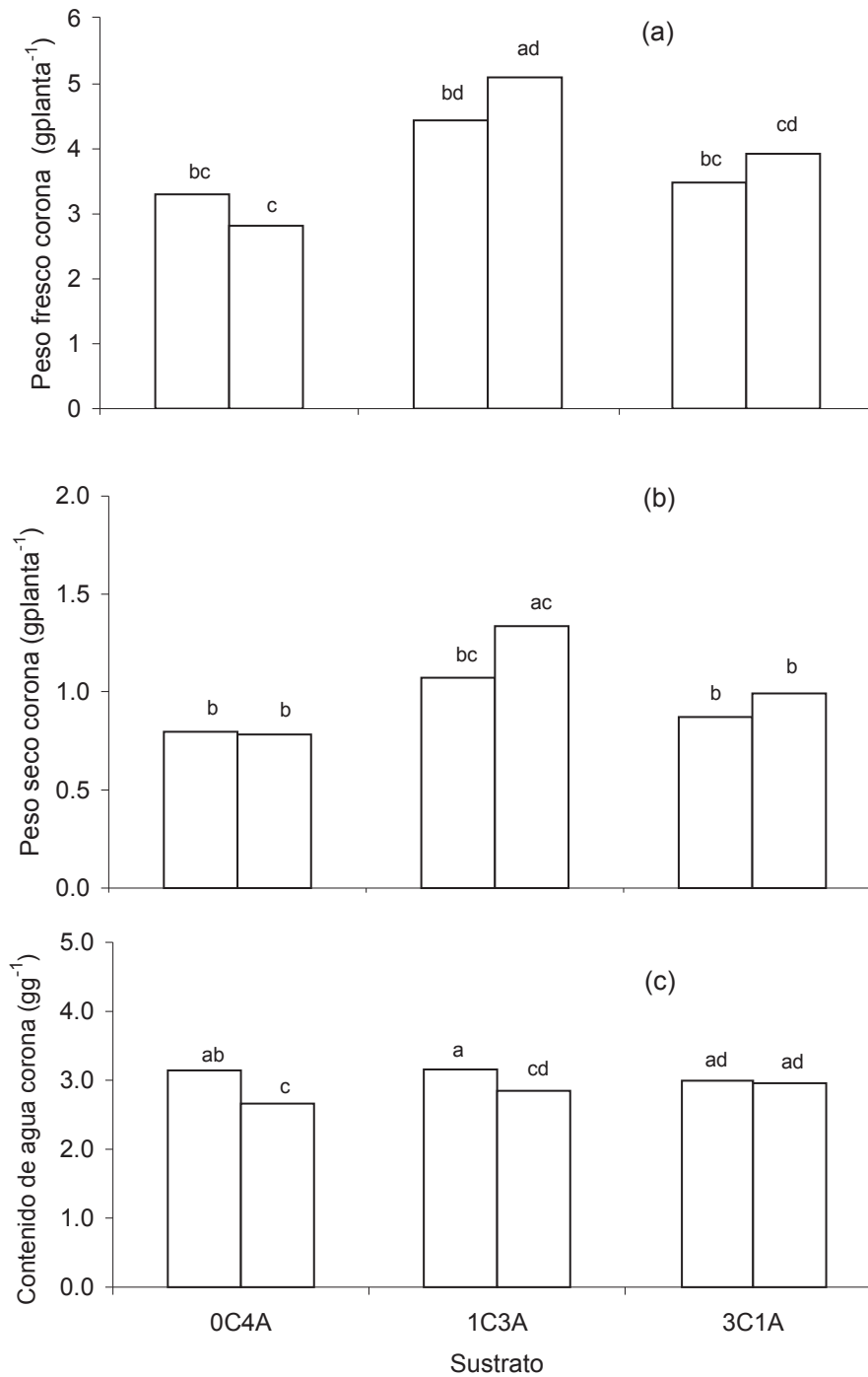


Fig. 5. Efecto de la interacción sustrato-micorrización sobre el peso fresco (a), peso seco (b) y contenido de agua (c) de las coronas de plantas de fresa, a los 140 días después de la plantación. Líneas diagonales= plantas micorrizadas, líneas verticales= plantas no micorrizadas. Letras diferentes indican diferencias significativas entre todos los tratamientos. LSD, n=4.

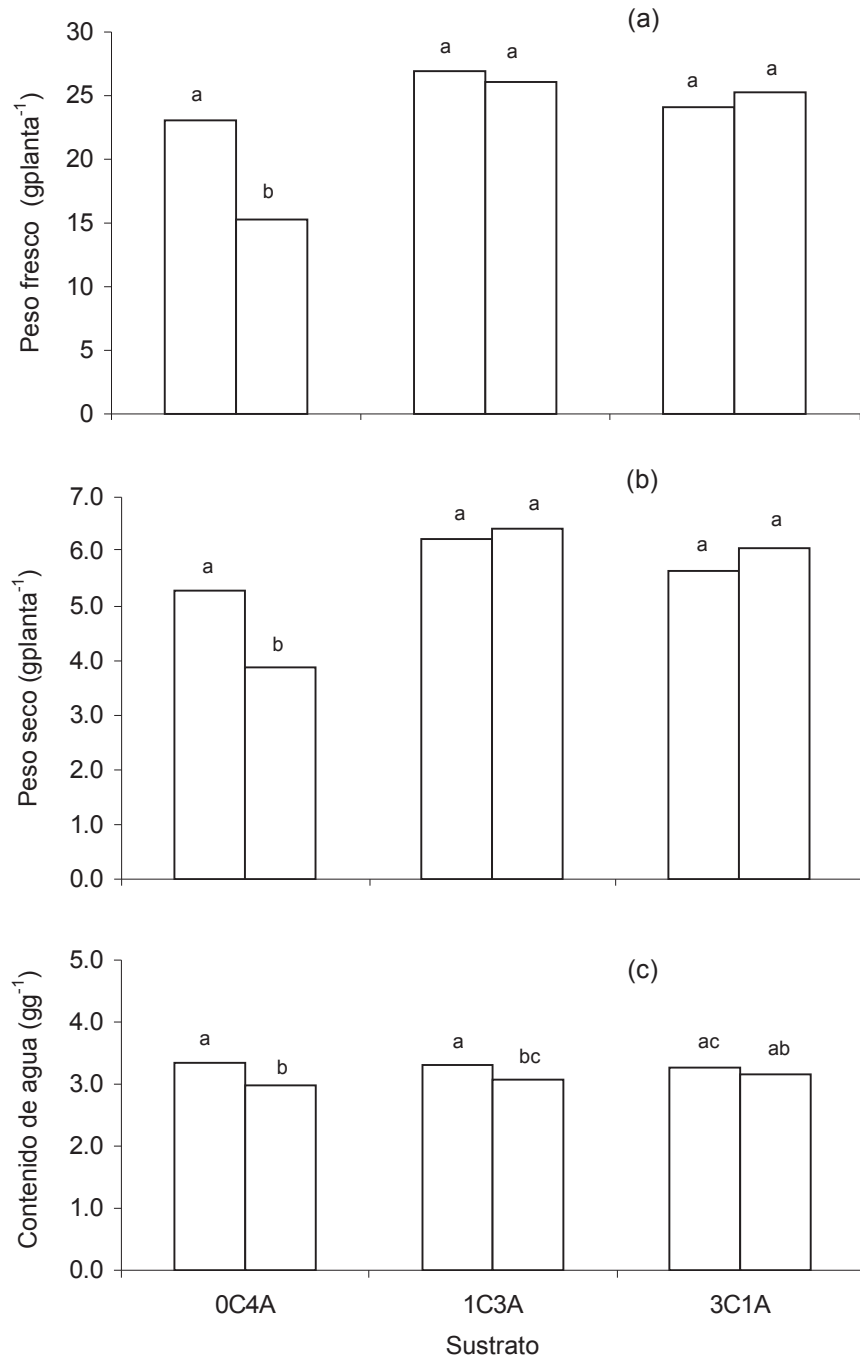


Fig. 6. Efecto de la interacción sustrato-micorrización sobre el peso fresco (a), peso seco (b) y contenido de agua (c) de la parte aérea de plantas de fresa, a los 140 días después de la plantación. Líneas diagonales= plantas micorrizadas, líneas verticales= plantas no micorrizadas. Letras diferentes indican diferencias significativas entre todos los tratamientos. LSD, n=4.

DISCUSIÓN.

El PSRM disminuyó en las raíces de las plantas cuando se aumentó la proporción de C en el sustrato. Previo a este trabajo el PSRM se ha relacionado con la compatibilidad huésped-hospedero (Varma y Shüepp, 1994) y con la densidad del inóculo (Amal de Silva, 1996, Clapperton y Reid, 1992), sin embargo, nuestros resultados indican que el sustrato es otro factor que lo modifica.

El mayor valor del AF, PF y PS de las H, de la C y de la PA de las plantas que crecieron en el sustrato 1C3A, diferente significativamente a la de las cultivadas en el sustrato 0C4A, confirman el efecto del sustrato en el crecimiento de las plantas de fresa y sugieren que en la proporción 1C:3A existe la aireación y humedad adecuada para la respiración de las raíces y/o retiene mayor cantidad de nutrimentos necesarios en las diversas funciones metabólicas de la planta. En la literatura se reporta que la incorporación de C a diferentes sustratos, incrementa de manera significativa su capacidad de retención de humedad. Handreck (1993) y Meerow (1994) mencionan que cuando mezclaron C con arena, en relación 1:1 v/v, mejoró la humectabilidad del sustrato en un 33% y García (2001) menciona que en especies ornamentales la utilización de C sólo, o en mezcla con otros materiales, alcanza retenciones de humedad superiores al 58%.

El AF menor de las PM con respecto al de las PNM, hasta 80 días después del establecimiento, es una respuesta de la planta al establecimiento del hongo en sus raíces, ya que se reporta que durante las primeras etapas de la asociación el HMA, para su desarrollo, induce a la planta a dirigir del 4-20% de fotoasimilados a las raíces (Douds et al., 2000), por lo que ésta disminuye su crecimiento.

El mayor AF, PF y PS de las H y PA de las PM cultivadas en el sustrato 0C4A y diferentes significativamente al de las PNM cultivadas en el mismo sustrato sugiere que *G. intraradices* mejoró la estructura física del sustrato a través de la red de hifas extraradicales, lo que le permitió tener una mayor retención de humedad y mejoró la adquisición y transporte de nutrimentos, principalmente N, para su desarrollo.

Las diferencias significativas en el CA de la CO de las PM y PNM, cultivadas en los sustratos 0C4A y 1C3A sugieren que en estos sustratos *G. intraradices* induce en la planta un mecanismo de ajuste osmótico, a través del cual acumulan solutos en sus vacuolas, reducen el potencial de soluto y consecuentemente el potencial hídrico y aumentan la capacidad de retención de agua. Los solutos acumulados pueden ser de naturaleza orgánica (azúcares, proteínas, ácidos orgánicos, etc.) o inorgánica, como iones minerales (Cárdenas-Navarro, et al., 1999; McIntyre, 2001). Es importante indicar que a la fecha los reportes que existen del efecto de la micorrización en plantas, evalúan el PF y PS de raíces y PA, sin considerar la CO y H en forma individual, además que no se había considerado el CA en estos órganos.

La respuesta de las plantas de fresa a la asociación con *G. intraradices*, diferente en cada sustrato en que las plantas crecieron, indican que este comportamiento está relacionado con el PSRM. Existió una mayor respuesta en las plantas con mayor PSRM (63%) y no hubo efecto significativo por la inoculación en las que tuvieron el menor PSRM (18%). Este resultado sugiere que la proporción de C en el sustrato afectó la colonización y desarrollo del HMA en las raíces de las plantas de fresa.

La selección del sustrato 1C3A fue debido a que en él las PM obtuvieron un desarrollo del AF similar al de las cultivadas en 1C3A y un mayor crecimiento de la CO, un factor importante si se considera que este es un reservorio de compuestos (nutrimentos, aminoácidos, lípidos, azúcares, etc) fundamentales para el rendimiento y la calidad de los frutos de fresa (Le Miere et al., 1998).

CONCLUSIÓN

El principal efecto del sustrato fue sobre el crecimiento y el de la micorrización en la acumulación de agua en los órganos de las plantas.

G. intraradices incrementó significativamente los valores del AF, el PF, PS y el CA de las H y de la PA, de las plantas cultivadas en el sustrato 0C4A y el CA de la CO y de la PA de las plantas cultivadas en los sustratos 0C4A y 1C3A. Sin embargo no tuvo efecto significativo en el PF y PS de la corona cuando las plantas crecieron en el mismo sustrato.

La inoculación no tuvo efecto significativo sobre ninguna de las variables evaluadas, cuando las plantas se cultivaron en el sustrato 3C1A.

Aunque las plantas que crecieron en el sustrato 0C4A obtuvieron un mayor beneficio de la interacción con *G. intraradices*, estas plantas presentaron el menor PF y PS de la CO, por lo que el sustrato seleccionado para el crecimiento de las PM fue la proporción 1C3A.

La respuesta diferente de la planta de fresa estuvo relacionado con el PSRM y éste con la proporción de C en el sustrato, por lo que los resultados anteriores indican la importancia de la selección del sustrato, para el estudio de la interacción *G. intraradices*-plantas de fresa cv Aromas.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo otorgado por Fondos Mixtos CONACYT- Gobierno del Estado de Michoacán, para la realización de este trabajo, a través del financiamiento del proyecto 12268 “Optimización de los aportes de N y del agua en el cultivo de la fresa (*Fragaria x ananassa* Duch).

REFERENCIAS

Azcón, C. y Barea, J.M. (1980). Micorrizas. Biología vegetal. Primera edición. Libros de Investigación y Ciencia. Barcelona, España. pp. 83-93.

Cárdenas-Navarro, R., Adamowicz, S., Robin, P. (1999). Nitrate accumulation in plants. A role for water. J. Exp. Bot.. 50: 625-635.

Clapperton, M.J. y Reid, D. M. (1992). A relationship between plant growth and increasing VA mycorrhizal inoculum density. New Phytol. 120:227-234.

De silva, A., Patterson, K. y Mitchell, J. (1996). Endomycorrhizae and Growth of "Sweetheart" strawberry seedlings. HortSc. 31:951-954.

Douds, D.D., Pffefer, P.E. y Shachar-Hill, Y. (2000). Carbon partitioning, cost and metabolism of arbuscular mycorrhizas: physiology and function. In: Kapulnick Y., Douds DDJ, eds, *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 107-129.

García, O.C. G., Alcanzar, G., Cabrera, R.I., Gavi, F. R, y Volke, V. H. (2001). Evaluación de sustratos para la producción de *Epipremnum aureum* y *Spathiphyllum wallissi* cultivadas en maceta. Terra 19(3):249-258.

Giovannetti, M. y Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection on roots. New Phytol. 84:489-500.

Hayman, D.S. y Tavares, M. (1985). Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. XV. Influence of soil pH on the symbiotic efficiency of different endophytes. New Phytol. 100:367-377.

Handreck, K.A. (1993). Propieties of coir dust, and use in the formulation of soilles potting media. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 24:349-363.

Graham, J.H. & Eissenstat, D.M. (1998). Field evidence for the carbon cost of citrus mycorrhizas. New Phytol. 140:103-110.

Hernandez-Sebastia, C., Samson, G., Bernier, P.Y., Piché, Y. y Desjardins, Y. (2000). *Glomus intraradices* causes differential changes in amino acid and starch concentrations of in vitro strawberry subjected to water stress. *Ney Phytol.* 148:177-186.

Kormanik, P.P. y McGraw, A.C. (1982). Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. In *Methods and principles of Mycorrhizal research*. Ed. N.C. Sschenk. pp 37-45. The Am. Phytophatol. Soc. St. Paul, MN.

Le Miére, P., Hadley, P., Darby, J., Battey, N. (1998). The effect of thermal enviroment, planting date and crown size on growth, development and yield of *Fragaria x ananassa* Duch. Cv. Elsanta. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 73, 786-795.

McIntyre, G.I. (2001). Control of plant development by limiting factors: A nutritional perspective. *Physiologia plantarum.* 113:165-175.

Meerow, A. W. (1994). Growth of two subtropical ornamentals using coir (coconut mesocarp pith) as a peat substitute. *HortSc.* 29:1484-1486.

Mosse, B., y Hayman, D.S. (1971). Plant response to vesicular-arbuscular mycorrhiza. II. En: unsterile field soils. *New Phytol.* 70:29-34.

Prasad, M. (1997). Physical, chemical and biological propieties of corri dust. *Acta Hortic.* 450:21-29.

Ruíz-Lozano, J.M., Azcón, R. y Gómez M. (1995). Effects of arbuscular mycorrhizal *Glomus* species on drought tolerance: Physiological and nutritional plant responses. *Appl. and Environ. Microbiol.* 61:456-460.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2007).

Smith, S.E. y Read, D.J. (1997). *Mycorrhizas Symbiosis*. Academic Press. London. pp.605.

Varma A. Y H. Schüepp. 1994. Infectivity and effectiveness of *Glomus intraradices* of micropropagated plants. Mycorrhiza. 5:29-37.

CAPITULO II

RESPONSE OF STRAWBERRY PLANTS (*Fragaria x ananassa* Duch) GROWN IN DIFFERENT LEVELS TO THE INOCULATION WITH *Glomus intraradices*.

SUMMARY

The aim of the work was to evaluate the response of strawberry plants (*Fragaria x ananassa* Duch) grown under different N levels to the inoculation with *Glomus intraradices*. Mycorrhizal and non-mycorrhizal plants were irrigated with nutrient solutions at six N concentrations. The biomass production was determined and the critical N curve was calculated. The results showed that, with exception of the fruit weight, the effect of the mycorrhization on plant growth was affected by the N concentration in the nutrient solution. Moreover the presence of the AMF modified the plant N content and the rate of its dilution on plant dry matter along growth. To our knowledge this work represents the first study of the effect AMF inoculation in productive strawberry plants, fertilized with a range of N concentrations using the dry matter N dilution theory.

Key words: nitrogen, plants of strawberry, *Glomus intraradices*, critical nitrogen curve, dilution of nitrogen.

INTRODUCTION

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are symbiotically associated with the roots of more than 90% of all terrestrial plants (Smith and Read, 1997). In this association the plant provides the fungus with carbon from photosynthesis and the fungus provides the plant with water and minerals from the soil (Mosse and Hayman, 1971). It is well established that the presence of the AMF in the roots modifies the carbon metabolism and increases the biomass of the plant (Bago et al., 2000). With strawberry several works are available on the effect of this association on the dry matter, flowering and fruit production (Niemi and Vestberg, 1992, Chávez and Ferrera-Cerrato, 1990), runner and daughters production (Alarcón et al., 2000), photosynthesis rate and amino acids production, growth under water deficit (Hernandez-Sebastia et al., 2000, Borkowska, 2002). However, most of these works has been made using *in vitro* plants and little it is known about of the effect of this symbiosis with plants in productive state.

It is well known that N is necessary for plants growth, since this element is essential for the synthesis of proteins, nucleic acids, coenzymes and many products and by-products of the secondary metabolism (Hopkins, 1995). Several reports have shown that the N availability affects the dynamic of the association between plants and AMF (Egerton-Warburton and Allen, 2000; Wallenda and Kottke, 1998). Nevertheless, there are no informations available about the effect of N fertilization on productive strawberry plants associated with AMF. Moreover, it has been shown that AMF take up N and make it available to plants (Govindarajulu et al., 2005), however, it is not known yet whether apart from an effect on plant growth AM colonized plants show different N levels compared to non-colonized plants.

In the last decades it has been stated that plant dry matter and N accumulation are related. This relation shows that N content decreases when plant dry matter increases, even when the availability of N in the soil is non-limiting for plant growth. This so-called N dilution effect has been linked to the remobilization of N from senescent organs to plant parts with growth activity (Caloin and Yu, 1984). Using this

N dilution effect a critical N content curve has been developed, which allows predicting the minimal N content necessary for maximum growth in any stage of the plant development (Lemaire and Salette, 1984). This curve has been recently established in strawberry (Cárdenas-Navarro, et al., 2004). The curves of N dilution and critical N content have demonstrated their usefulness in physiological, ecophysiological and agronomical studies (Tei, et al., 2002; Le Bot et al., 1997), however, their calibration has never been considered in mycorrhizal plants, although the AM association is present in almost all plant species and it is affected by the similar physiological and ecophysiological processes.

The hypothesis of this study is that the association between AMF and strawberry plants modifies the rate of dilution of the N in the dry matter and the values of the critical N content curve. The aims of the present work is: 1) to evaluate the response of productive strawberry plants, grown with different N levels, to the inoculation with AMF, 2) to determine if the AMF modifies the N status during plant growth and 3) to evaluate if the AMF modifies the N dilution rate on plant dry matter. For last the two objectives the critical N content curve of was used as a heuristic tool.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted between September 2004 and January 2005, in a greenhouse (“shade” type, i.e., plastic under a shade net) at the Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (IIAF), at the Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH), in Morelia, Michoacán, México. During this period the maximum and the minimum temperature in the greenhouse varied between 28° C and 32° C and between 8° C and 18° C, respectively.

The strawberry plants used (cultivar “Aromas”) were previously propagated in greenhouse conditions, in a sterilized substrate with weather vapor (40 min at 95°C). Before the experiment was established, the absence of AMF in the roots was verified by the ink and vinegar technique (Vierheilig et al., 1998), modifying the times in sodium hydroxide and ink and vinegar solutions (7 and 5 minutes respectively). Immediately before planting, the roots were disinfected by submerging them during 30 seconds in a solution of sodium hypochlorite at 2% (v/v) and rinsed with water. The plants were placed in 3 l black plastic bags in a sterile substrate (coco nut fiber:perlite; proportion 1:3 v/v sterilized at 120° C for 1 h).

The inoculum consisted of *Glomus intraradices* spores obtained from in vitro cultures (99% of viability, MTT method at 5% (w/v)). The spores were diluted in a Phytigel 0.2/% solution (Sigma catalogue, No P-8169) at 0.5% to obtain a final concentration of 50 spores ml⁻¹ approximately. 18 days after setting-up the experiment each plant received 2 ml of inoculum applied directly in the substrate, nearly to the recently formed roots. The presence of AMF in the roots was verified one month later (Vierheilig et al., 1998).

The experiment was made using a full factorial completely randomized design with two factors: 1) Inoculation, with 2 levels: mycorrhizal and non-mycorrhizal plants and 2) N concentration in the nutrient solution, with 6 levels: 0.0, 0.03, 0.3, 3.0, 6.0 and 18 mM. Each of the 12 treatments generated by the combination of these factors levels was replicated 3 times, producing 36 experimental units with 10 plants each. Every second day all plants were irrigated up to substrate saturation, with the corresponding

nutrient solution. In all nutrient solutions N was supplied as NO_3^- , the proportion between cations was constant; the concentration of SO_4^- was variable in order to maintain the balance between cations and anions. When N was below 18.0 mM the cation concentrations were maintained as follows: K^+ , 3.0; Ca^{++} , 3.5; and Mg^{++} , 1.5 mM and they were increased in the treatment of 18 mM of N at: K^+ , 6.5; Ca^{++} 7.5 y Mg^{++} , 3.25 mM. In all nutrient solutions the concentration of P was at 0.3 mM, EDTA-Fe.1H₂O at 53 ppm and others microelements at: B, 0.22 ppm; Cu, 0.03 ppm; Fe, 0.6 ppm; Mn, 0.64 ppm; Mo, 0.027 ppm; Zn, 0.212 ppm. The pH was adjusted at every application date to 5.5.

Biomass production was evaluated in the treatments of 0.0, 0.3, 3.0 and 6.0 mM of N, 48 and 155 days after the experimental set-up. For each plant the Percentage of Colonization (PC) was estimated by the gridline method (Giovannetti and mosse,1980) and the Leaf Area (LA) (Leaf Area Meter LI-COR, Li-3100), the dry weight of leaves (LDW), stems (TDW) and roots (RDW) were measured (Analytic Balance, Mettler Toledo, AT200). Dried biomass of organs was obtained at 105° C during 48 hours (Oven Felisa). The dry weight of shoots (SDW) and whole plant (PDW) was calculated as follows: $\text{SDW} = \text{LDW} + \text{TDW}$; $\text{PDW} = \text{SDW} + \text{RDW}$. The mature fruits of each experimental unit were collected between day 140 and 160, they were numbered and weighted (Balance Mettler Toledo, PR8002), in order to calculate the average fruit fresh weight (AFW).

The critical N curves for mycorrhizal and non-mycorrhizal plants were calculated according to the method developed by Justes et al. (1994), using all N treatments and four sampling dates. This curve is described by the equation: $\%N = a (\text{dm})^{-b}$, where: %N is the percentage of N in the plant dry matter, “a” is the %N of the plant for a biomass equivalent to 1 ton.ha⁻¹, “dm” is the weight of the dry matter in ton.ha⁻¹ and “b” indicates the rate N dilution during the development of the crop. Plant was randomly sampled in each experimental unit at day 48, 85, 125 and 155. Plant leaves were cut and dried at 105° C during 24 hours (Oven Felisa) in order to determine the LDW. Thereafter leaves were ground to powder (Mill Restsch, MM 200) and the N content was determined by Dumas method (Auto analyzer Carlo Erba, Flash Ea 1112).

The statistic analysis was made with the software SYSTAT 9.01 for Windows. LDW, PDW and AFW were submitted to ANOVA test and when statistically significant differences were found the Pair Wise Comparison Mean Tests LSD was applied.

RESULTS

The PC of mycorrhizal plants varied from 40% to 81% and from 25% to 80% between N-treatments for the first and the second sampling dates, respectively. In all N-treatments non-mycorrhizal plants showed a lower PC, representing in average less than 40% and 22% of the mycorrhizal ones, for the first and the second sampling dates respectively.

The LA values for mycorrhizal and non- mycorrhizal plants after 48 (Fig. 1a) and 155 days (Fig. 1b) is shown. A similar pattern was observed in both sampling dates. The LA of the mycorrhizal plants was only increased in the 6.0 mM and 3 mM N-treatment. No differences of the LA between non-mycorrhizal and mycorrhizal plants could be observed except in the 3.0 mM N-treatment, where the LA of the mycorrhizal plants was significantly increased.

Figure 2 shows the LDW values observed at 48 and 155 days after plant establishment. At the first sampling date (Fig. 2a), the LDW of the mycorrhizal plants was reduced for the N-treatments below 3 mM and it was increased for the 3.0 mM and 6mM N-treatments, even if significant ($p < 0.05$) differences between non-mycorrhizal and mycorrhizal plants were only observed for the 0.0 mM, 0.3 mM and 3.0 mM N-treatments. 155 days after plant establishment, the LDW of mycorrhizal plants was increased in the 0.0 mM, 3.0 mM and 6.0 mM N-treatments, but significant ($p < 0.05$) differences between non-mycorrhizal and mycorrhizal plants were only observed in the 3.0 mM N-treatment.

Figure 3 shows the PDW values for mycorrhizal and non-mycorrhizal plants at 48 and 155 days after plant establishment. A similar pattern was observed in both sampling dates. The PDW of mycorrhizal plants was reduced for the N-tratements below 3.0 mM, it was increased for the 3 mM N-treatments and it was very close for the 6.0 mM N-treatments. However significant ($p < 0.05$) differences of the PDW between non-mycorrhizal and mycorrhizal plants could be only observed in the 0.0 mM, 0.3 mM and 3.0 mM N-treatments, of the first sampling date.

The AFW is shown in Figure 4. No significant difference was detected between mycorrhizal and non- mycorrhizal treatments, fertilized with the same N-treatments.

The critical N curves of mycorrhizal and non-mycorrhizal treatments, adjusted according to the method suggested by Justes et al. (1994), as well as the equations describing them are shown in Fig. 5. The data showed that the “a” value is similar for mycorrhizal and non-mycorrhizal treatments (2.81 and 2.89, respectively); the “b” value is 0.32 for non-mycorrhizal treatments and 0.21 for mycorrhizal treatments. It was also observed that once the plants reached a foliar biomass greater than 1.5 g, the N content of mycorrhizal treatments was higher than in the non- mycorrhizal treatments.

Figure 6 shows the evolution of the LDW:SDW ratio, in mycorrhizal and non-mycorrhizal treatments, at 48 and 155 days after plants establishment, fertilized with 0.0, 0.3, 3.0 and 6.0 mM of N in the nutritious solution. In the first sampling date, non-mycorrhizal treatments had a higher LDW:SDW ratio, than the mycorrhizal ones, except for 6.0 mM N-treatment (Fig. 6a). However, in the second sampling date the situation was the opposite (Fig. 6b). In both sampling dates, the mycorrhizal plants irrigated with nutrient solutions with 3.0 mM N concentration maintained a value of the LDW:SDW ratio over 0.75, but in the case of the non- mycorrhizal plants, this value decreased.

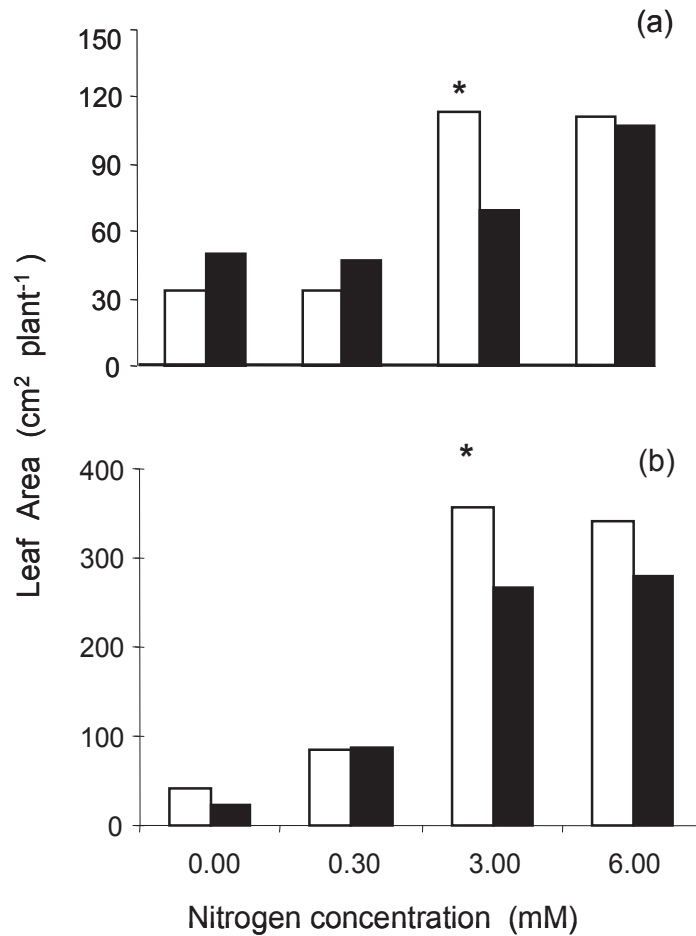


Fig. 1. Leaf area of strawberry plants grown in coco nut fiber:perlite (1:3, v/v) and fertilized with different N concentrations in the nutrient solution. □ Mycorrhizal and ■ non mycorrhizal plants with *G. intraradices*. (a) 48 days and (b) 155 days after plant establishment. *Indicates statistically significant differences ($p < 0.05$) between mycorrhizal and not mycorrhizal plants, fertilized with the same N treatment, by pair wise comparison mean test LSD.

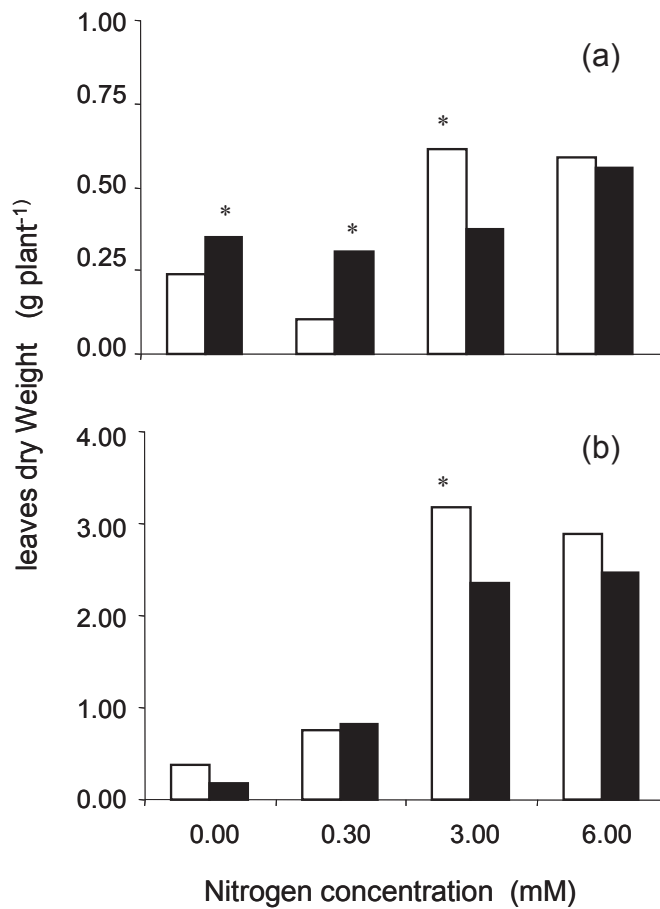


Fig. 2. Leaves dry weight of strawberry plants, grown in coco nut fiber:perlite (1:3, v/v) and fertilized with different N concentrations in the nutrient solution. □ Mycorrhizal and ■ non mycorrhizal plants with *G. intraradices*. a)48 days and b) 155 days after plant establishment. *Indicates statistically significant differences ($p < 0.05$) between mycorrhizal and not mycorrhizal plants, fertilized with the same N treatment, by pair wise comparison mean test LSD.

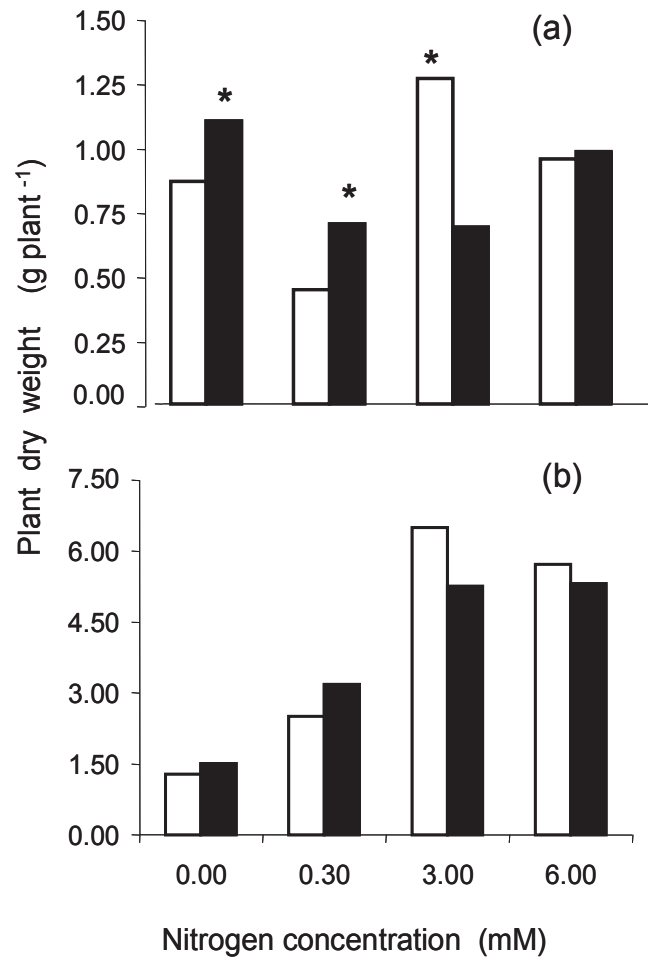


Fig. 3. Dry weight of strawberry plants, grown in coco nut fiber:perlite (1:3, v/v) and fertilized with different N concentrations in the nutrient solution. □ Mycorrhizal and ■ non mycorrhizal plants with *G. intraradices*. a)48 days and b)155 days after plant establishment. *Indicates statistically significant differences ($p < 0.05$) between mycorrhizal and not mycorrhizal plants, fertilized with the same N treatment, by pair wise comparison mean test LSD.

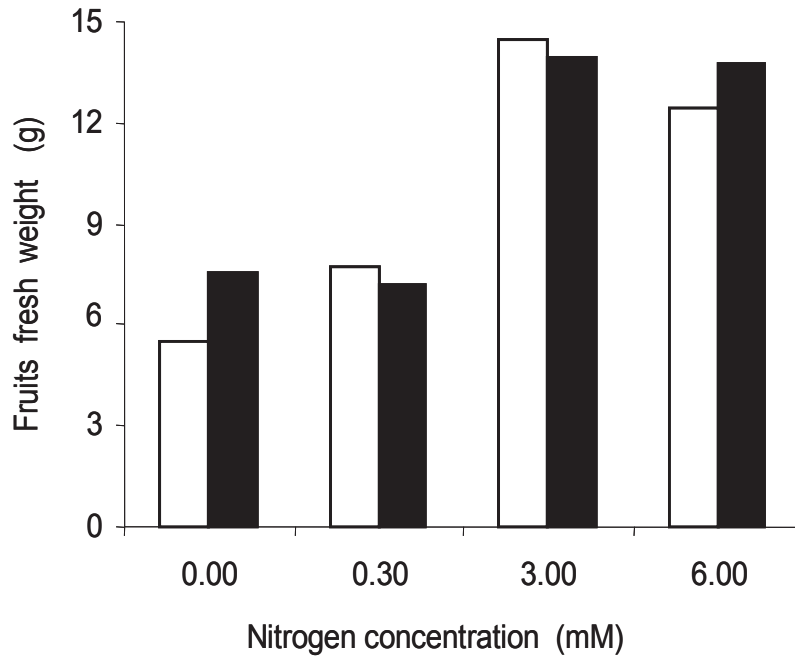


Fig.4. Average fruits fresh weight of strawberry plants, grown in coco nut fiber:perlite (1:3, v/v) and fertilized with different N concentrations in the nutrient solution. □ Mycorrhizal and ■ non mycorrhizal plants with *G. intraradices*. a)48 days and b)155 days after plant establishment. There were non statistically significant differences ($p < 0.05$) between mycorrhizal and not mycorrhizal plants, fertilized with the same N treatment, by pair wise comparison mean test LSD.

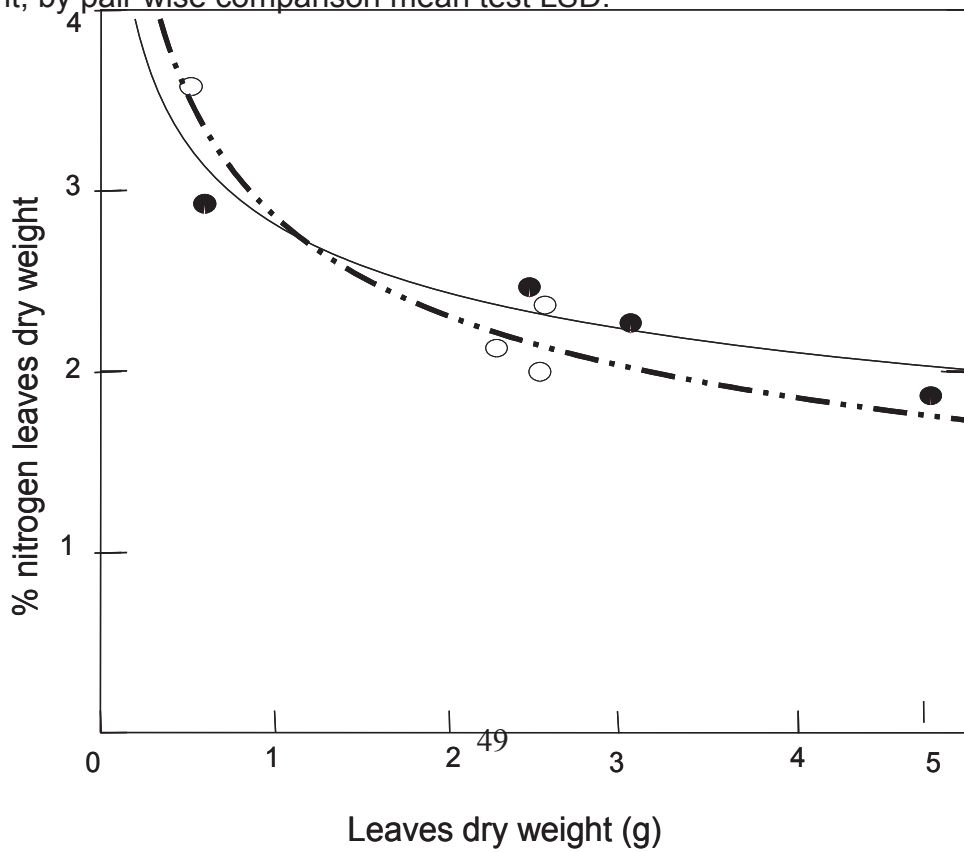


Fig. 5. Critical N curves of strawberry plants, grown in coco nut fiber:perlite (1:3, v/v) and fertilized with six different N concentrations in the nutrient solution. Mycorrhizal (open circles) and non mycorrhizal (closed circles) with *G. intraradices*. The curves were made by the method proposed by Justes et al., (1994). Dashed line, mycorrhizal plants: $\%N = 2.81 \text{ ms}^{-0.21}$ ($r^2 = 0.81$). Dotted line non mycorrhizal plants: $\%N = 2.89 \text{ ms}^{-0.32}$ ($r^2 = 0.82$). ms = leaf dry matter.

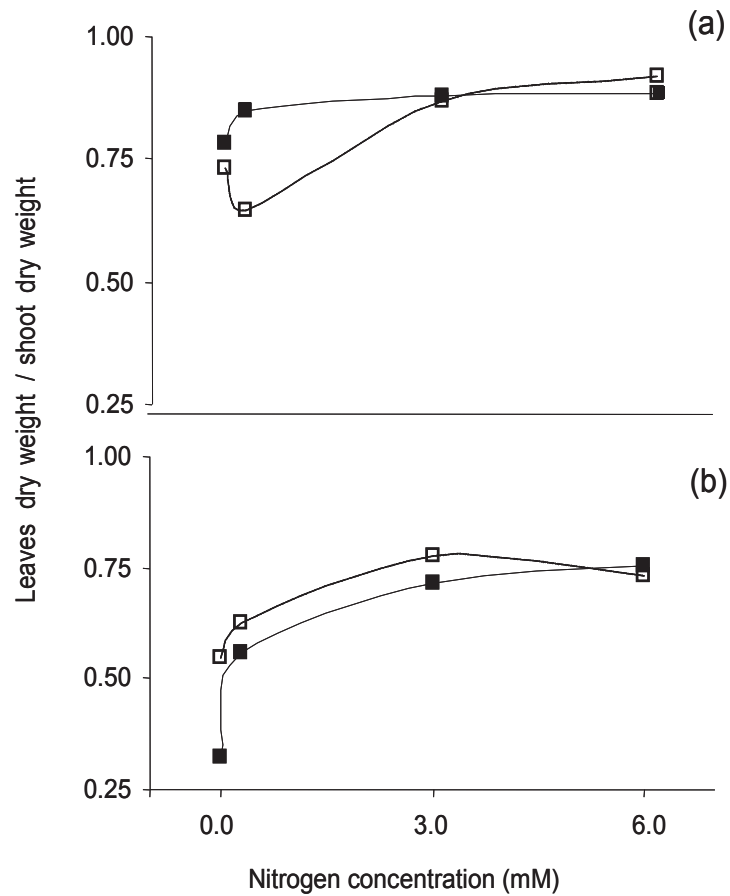


Fig. 6. Leaf and shoot dry weights ratio of strawberry plants, grown in coco nut fiber:perlite (1:3, v/v) and fertilized with 0.0, 0.3, 3.0 and 6.0 mM of N in the nutritious solution. Mycorrhizal (white square) and non mycorrhizal (black square) plants. a) 48 days and b) 155 days after plant establishment.

DISCUSSION

In our study, the N concentration was a key factor that influenced the LA, LDW and PDW development. After 48 days the mycorrhizal treatment, with N concentrations lower than 3.0 mM, showed a minor development of the above mentioned variables compared to the non-mycorrhizal treatments. This might be due to a reduced availability of photo-assimilates for the young plant leaves as the AMF acts as a carbon sink as reported in several studies (Lerat et al. 2003a and 2003b).

In the N-treatments of 3.0 mM, at both sampling dates the LA, LDW and PDW of mycorrhizal plants was clearly higher than in the non-mycorrhizal ones. This result suggests that in this N-treatment, the N availability in de rhizosphere was enough to allowing the fungus development as well as the plant growth. The development of a higher LA of the mycorrhizal plants increase photo-assimilates production and their availability for fungal growth. Such a condition enhance the capacity of the fungus to transport nutrients to the host plant, resulting in a better plant development, as it has been previously documented in other systems (Clarke and Zeto, 2000; Subramanian and Charest, 1999).

Although we observed that after 155 days *G. intraradices* contributes to an increase of vegetative biomass, in the 3.0 mM N treatment, this increase was not associated with increases in the AFW.

At the first sampling date the N content of mycorrhizal plants was lower than in the non-mycorrhizal plants. This suggests that at this stage, the mycorrhizal plants diminished their capacity to produce new leaves and the N leaf content, due to the carbohydrates demand for the establishment and development of the AM. However, when the LDW passed over 1.5 g, the mycorrhizal plants accumulated more N than the non-mycorrhizal ones (Fig. 5). This behavior suggests that once the mycorrhiza is established, it may enhance the N uptake and decrease its remobilization from older leaves, reducing leaves senescence. The role of AMF in N uptake and its

translocation to the host plant has been documented in several studies (Hodge et al., 2001; Azcón et al., 2003; Govindarajulu et al., 2005).

N dilution in the plant dry matter may be produced by self shading of the leaves (Greenwood et al., 1991; Lemaire et al., 1991; Lemaire and Chartier, 1992) or by the decrease of LDW:SDW ratio, along plant growth (Lemaire et al., 1985, 1992). The first case refers to the N remobilization from older senescent shaded leaves to the leaves growing in the light during plant growth (Salette and Lemaire, 1981). In the later case, N dilution is explained by the augmentation of the shoot carbon:nitrogen ratio, associated with the increase of cellulose and lignin content (carbon compounds) and to the decrease of the protein content in stems and senescent plant parts during growth (Lemaire et al., 1992).

The critical N curves showed a typical behavior: N content decreased as dry matter increased. However the dilution rate was higher (with a lower value of the exponent in the equation) in non-mycorrhizal plants than in the mycorrhizal plants. These data suggest that the non-mycorrhizal plants show a higher N remobilization, from senescent leaves to new leaves. On the other hand, in the mycorrhizal plants, the N remobilization is lower and leaves senesce slower and/or there is an enhanced production of new leaves leading to a slower N content decrease in the whole plant canopy during growth. This idea is supported by the higher LDW observed in the mycorrhizal plants at the two sampling dates (Fig. 5).

The higher LDW:SDW ratio observed in non-mycorrhizal plants (compared to mycorrhizal), for the N treatments below 3.0 mM and 48 days after plant establishment (Fig. 6a), may be related to the lower efficiency of non-mycorrhizal plants to accumulate carbon in their shoots, during the first growing period. This suggests that in this growing period the mycorrhizal plants, grown at low N availability, accumulates a larger quantity of carbon in the stems, which is utilized for the maintenance of the mycorrhiza, this effect disappeared in treatments equal or higher than 3.0 mM N. After 155 days (Fig. 6b), the highest value of this ratio in the mycorrhizal treatments (except for the 6.0 mM N treatment) indicates that they accumulate more carbon as a consequence of the enhanced development of LA.

These results show that the N availability in the soil is a key factor for the contribution of *G. intraradices* to the carbon accumulation in strawberry plants. This is in agreement with early reports that demonstrate a change in the carbon metabolic pathway of the host plant associated to AMF (Bago et al., 2000).

The topological arrangement of the plants used in this work and the calculation of the critical N curve only with plant leaves, makes the comparison of the parameters with others reported in literature difficult. However, our approach gives new information about the relation between biomass accumulation and N content in plants mycorrhizal with *G. intraradices*. To our knowledge this is the first report on the effect of *G. intraradices* on growth parameters of strawberry plants that uses the N dilution theory.

ACKLOWEDGEMENTS

This work was supported by a fund provided by Fondos Mixtos CONACyT - Gobierno del Estado de Michoacán, for the project No. 12268 “Optimización de los aportes de N y del agua en el cultivo de la fresa (*Fragaria x ananassas Duch*). The authors wish to thank Sandra and Silvia Velasco López, Flor Lorena Reyes Sánchez and Alejandrino López Hernández.

REFERENCES

Alarcón, A., Ferrera-Cerrato, R., González-Chavez M. C., Villega-Monter, A. (2000): Hongos micorrizicos arbusculares en la dinámica de aparición de estolones y nutrición de plantas de fresa Cv. Obtenidas por cultivo in vitro. *Terra* 18, 211-218.

Azcón, R., Ambrosano, E., Charest, C. (2003): Nutrient acquisition in mycorrhizal lettuce plants under different phosphorus and nitrogen concentration. *Plant Sci.* 165, 1137-1145.

Bago, B., Pfeffer, P. E., Schachar-Hill, Y. (2000): Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. *Plant Physiol.* 124, 949-957.

Borkowska, B. (2002): Growth and photosynthetic activity of micropropagated strawberry plants inoculated with endomycorrhizal fungi (AMF) and growing under drought stress. *Act. Physiol. Plant.* 24, 365-370.

Caloin M. and Yu, O. (1984): Analyze of the time course of changes in nitrogen in *Dactylis glomerata* L. using a model of plant growth. *Annals Bot.*, 54:69-79.

Cárdenas-Navarro, R., López-Pérez, L., Lobit, P., Escalante-Linares, O., Castellanos-Morales, V., Ruíz-Corro, R. (2004): Diagnosis of N status in strawberry (*Fragaria x ananassas* Duch). *Acta Hort.* 654, 257-262.

Chávez, G. and Ferrera-Cerrato, R. (1990): Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on tissue culture-derived plantlets of strawberry. *Hort Sc.* 25, 903-905.

Clarke, R. B., Zeto, S.K. (2000): Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *J. Plant Nutr.* 23, 867-902.

Egerton-Warburton, L.M., Allen, E. B. (2000): Shifts in arbuscular mycorrhizal communities along an anthropogenic nitrogen deposition gradient. *Ecol. Appl.* 10, 484-496.

Govindarajulu, M., Pfeffer, P. E., Jin, H., Abubaker, J., Douds, D. D., Allen, J.W., Bücking, H., Lammers, P.J., Schachar-Hill, Y. (2005): Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nature* 1038,1-5.

Greenwood, D. J., Gastal F., Lemaire, G., Draycott, A., Millard, P., Neeteseon, J.J. (1991): Growth rate and % N of field grown crops: Theory and experiments. *Annals Bot.* 66, 425-436.

Giovannetti M. and Mosse B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection on roots. *New Phytol.* 84,489-500.

Hernández-Sebastia, C., Samson, G., Pierre-Yves, B., Piché, Y., Desjardins, Y. (2000): *Glomus intraradices* causes differential changes in amino acid and starch concentrations of in vitro strawberry subjected to water stress. *New. Phytol.* 148, 177-186.

Hodge, A., Campbell, C. D., Fitter, A. H. (2001): An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. *Nature.* 413:297-299.

Hopkins, W. (1995): Introduction to plant physiology. Ed. John Wiley p 464.

Justes, E., Mary, B., Maynard, J.M., Machet, J.M., Huche-Thelier, L. (1994): Determination of a critical nitrogen curve for winter wheat crops. *Annals Bot.* 74, 397-407.

Le Bot, J., Andriolo, G., Gary, C., Adamowicz, S., Robin, P. (1997): Dynamics of N accumulation of tomato plants in hydroponics: an analysis of vegetative and fruit compartments, in Diagnostic procedures for crop N management. Lemaire, G. and Burns, IG Eds. INRA-Editions, Les Colloques 82, 37-51.

Lemaire, G., Khaity, M. Onillon, B., Allirand, J.M., Chartier M., Gosse, G. (1992): Dynamics of accumulation and partitioning of N in leaves, stems and roots of lucerne (*Medicago sativa* L.) in a dense canopy. *Annals Bot.* 70, 429-435.

Lemaire, G. and Chartier, M. (1992). Relationships between growth dynamics and nitrogen uptake for individual sorghum plants growing at different plant densities, in Proceedings of the 2nd ESA Congress. Warwick University, England. 98-99.

Lemaire, G., Onillon, B., Gosse, G., Chartier, M., Allirand, J.M. (1991): Nitrogen distribution within a Lucerne canopy during regrowth : Relation with light distribution. *Annals Bot.* 68, 483-488.

Lemaire, G. Cruz, P., Gosse, G., Chartier, M. (1985): Étude des relations entre la dynamique de prélèvement d'azote et la dynamique de croissance en matière sèche d'un peuplement de luzerne (*Medicago sativa* L.). *Agronomie* 5, 685-692.

Lemaire, G., Salette, J. (1984): Croissance estivale en matière sèche de peuplements de fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreb.) et de dactyle (*Dactylis glomerata* L.) dans l'ouest de la France. I. Étude en conditions de nutrition azotée et d'alimentation hydrique non limitantes. *Agronomie* 7, 381-389.

Lerat, S., Lapointe, L., Gutjahr, S., Piché, Y. Vierheilig, H. (2003a): Carbon partitioning in a split-root system of arbuscular mycorrhizal plants is fungal and plant species dependent. *New Phytol.* 157, 589-595.

Lerat, S., Lapointe, L., Piché, Y., Vierheilig, H. (2003b): Variable carbon sink strength of different *Glomus mosseae* strains colonizing barley roots. *Can. J. Bot.* 81, 886-889.

Mosse, B., and Hayman, D. S. (1971): Plant response to vesicular-arbuscular mycorrhiza. II. En: unsterile field soils. *New Phytol.* 70, 29-34.

Niemi, M., Vestberg, M. (1992): Inoculation of commercially grown strawberry with VA mycorrhizal fungi. *Plant Soil.* 144, 133-142.

Salette, J., Lemaire, G. (1981): Sur la variation de la teneur en azote des graminées fourragères pendant leur croissance : Formulation d'une loi de dilution. *Comptes-rendus de l'Académie des Sciences de Paris, Série III.* Paris. 92, 875-878.

Smith, S. E. and Read, D. J. (1997): *Mycorrhizas Symbiosis*. Academic Press. London. pp. 605.

Subramanian, K.S. and Charest, C. (1999). Acquisition of N by external hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus and its impact on physiological responses in maize under drought-stressed and well-watered conditions. *Mycorrhiza*. 9, 69-75.

Tei, F., Benincasa, P., Guiducci, M. (2002). Critical nitrogen concentration in processing tomato. *Europ. J. Agronomy* 18: 45-55.

Vierheilig, H., Coughlan, A.P., Wyss, U., Piché, Y. (1998). Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 12, 5004-5007.

Wallenda, T. and Kottke, I. (1998). Nitrogen deposition and ectomycorrhizas. *New Phytol.* 139, 169-187.

CAPITULO III

CALIDAD DE FRUTOS DE PLANTAS DE FRESA (*Fragaria x ananassa* Duch) MICORRIZADAS CON *Glomus intraradices* Y FERTILIZADAS CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO.

RESUMEN

La calidad de los frutos es determinada, entre otros factores por la nutrición mineral y se sabe que los hongos micorrizicos arbusculares (HMA) incrementan la adquisición de agua y nutrimentos del suelo, mejoran el crecimiento y modifican el metabolismo del carbono de la planta, sin embargo, poco se conoce sobre su efecto en la calidad de los frutos. El nitrógeno (N) es el elemento principal necesario para el crecimiento y la producción de compuestos del metabolismo secundario de las plantas, relacionados con la calidad de los frutos, sin embargo, su disponibilidad en el suelo afecta la interacción HMA-planta hospedero, lo que se sugiere que la fertilización nitrogenada y la micorrización modifican la calidad de los frutos. El objetivo fue evaluar el efecto del N y la micorrización, en la calidad de frutos de fresa. Para esto, el peso (P), el diámetro (D), la longitud (Lo) y los grados Brix (°Brix) se midieron en los frutos frescos y la acidez total (AT), el color, los contenidos de macro (MAE), microelementos (MIE), fenoles totales (FT), compuestos fenólicos (CF) y azúcares solubles, en frutos liofilizados de plantas micorrizadas (PM) y no micorrizadas (PNM) con *Glomus intraradices*, fertilizadas con 3, 6 y 18 mM de N. Se determinaron diferencias significativas ($p < 0.05$, LSD) por efecto de la concentración de N, la micorrización y/o la interacción de ambos en la mayoría de las variables evaluadas, excepto el tamaño. Estos resultados demostraron que la fertilización nitrogenada, la micorrización y sus interacción, modificó la calidad de los frutos de fresa.

Palabras clave: hongos micorrizicos arbusculares, nitrógeno, fresa, calidad, frutos.

ABSTRACT

Mineral nutrition modifies the fruits quality and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) modify the carbon metabolism of host plant and improve its growth and mineral nutrition by means of a more effective water and nutrient uptake of soil. However little is known about their effect on the fruits quality. Nitrogen is the main mineral element necessary for plant growth since this is an essential component of proteins, amino acids, nucleic acids and numerous products of the secondary metabolism, which determinate the fruits quality. However, the availability of N to plant roots modifies mycorrhiza-plant interaction, which suggests that N fertilization and HMA inoculation affect the quality of strawberry fruits. The objective of this investigation was to evaluate the effect of N availability and the AMF inoculation on the quality of strawberry fruits. For this purpose, fruits of inoculated and non inoculated strawberry plants with *Glomus intraradices*, grown with three nitrogen levels (3, 6 and 18 mM) in the irrigation water, were harvested. Fruit quality was determined by measuring fresh weight, width, length and °Brix. Micro and macro nutriments, total phenols, phenolic compounds and soluble sugars contents were measured after immersion and ground with N liquid and freeze-drying of fruits. The statistical analysis of results highlighted significant differences ($P < 0.05$, LSD) for the N, the inoculation and interaction both factors on the majority variables evaluated. This results show that the inoculation, the N concentration in the nutrient solution and interaction between both factors modify the quality strawberry fruits.

Key words: arbuscular micorrhizal fungi, nitrogen, strawberry, fruits quality.

INTRODUCCION

La mayoría de las plantas se benefician de la interacción que sostienen con algunos microorganismos del suelo, como son los hongos micorrizicos arbusculares (HMA). Estas simbiosis mutualistas, entre el hongo y la raíz de una planta hospedero (Mosse y Hayman, 1971) se basan en la transferencia de carbono de la planta al hongo y de MIE y MAE (P, N, K, Zn, Cu y Mg) del hongo a la planta (Clarke and Zeto, 2000), por lo que mejoran su estado nutricional (Simard et al., 2002).

Los HMA también incrementan la actividad fotosintética, cuantificado como la asimilación de CO₂ (Auge 2001; Estrada-Luna *et al.* 2000) y modifican la repartición del carbono en las plantas (Jifon et al., 2002), como respuesta a la demanda de compuestos carbonados en las raíces, por la presencia del hongo (Douds et al, 2000; Graham, 2000).

Los trabajos de inoculación de plantas de fresa con HMA se han realizado únicamente en plantas in vitro y los resultados muestran que incrementan: 1) El crecimiento de la planta (Niemi y Vestberg, 1992), 2) La formación de estolones (Alarcón et al., 2000), 3) La actividad fotosintética (Borbowska, 2002) y 4) El número de frutos (Vestberg et al., 2000), sin embargo, a la fecha se desconoce cual es el efecto de estos microorganismos, sobre la calidad de los frutos.

La calidad y la aceptación entre los consumidores de la fresa, una fuente natural de antocianinas, flavonoides, ácidos fenolicos y rica en minerales (Kahkonen, et al., 2001; Heinonen, et al., 1998; Wang, et al., 1996), están determinados, además del tamaño y de la firmeza, por la concentración de azúcares solubles y ácidos, que contribuyen en el aroma y potencializan el efecto que los compuestos aromáticos le imparten al sabor (Wang, et al., 2003).

El N es un elemento indispensables para la síntesis de proteínas, ácidos nucleicos, coenzimas y productos del metabolismo secundario de las plantas (Hopkins, 1995), por lo que también es importante en la calidad de los frutos.

Se ha demostrado la participación de los HMA en la adquisición de N en *Lactuca sativa* (Azcón et al., 2003), en el transporte de ^{15}N en la simbiosis *Cucumis sativum* - *G. intraradices* (Johansen et al., 1993) y en la adquisición de N-NO_3 , por el micelio extraradical de *G. intraradices*, crecido en cultivo monoaxenico (Bago et al., 1996). Sin embargo, también existen reportes que señalan que la concentración de N en el suelo, modifica el efecto de estos microorganismos en la planta hospedero (Azcón et al., 2003, 2001; Corkidi et al, 2002).

Por lo anterior, la hipótesis de este trabajo es que *G. intraradices* modifica la calidad de los frutos de fresa y que su contribución es afectada por la fertilización nitrogenada.

MATERIALES Y METODOS

El experimento se estableció entre Septiembre del 2004 y Enero del 2005, en un invernadero tipo malla sombra, ubicado en el Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en Morelia, Michoacán, México. La temperatura máxima y mínima dentro del invernadero varió entre 28 - 32°C y 8 - 18°C, respectivamente.

Las plántulas de fresa utilizadas (cultivar "Aromas") se propagaron previamente en invernadero, en un substrato estéril (vapor de agua, 40 min, 95°C). Previo a la plantación, se verificó la ausencia del AMF en el interior de las raíces de las plántulas, mediante la técnica de tinta y vinagre (Vierheilig et al., 1998), modificando los tiempos en las soluciones de KOH y tinta y vinagre (7 y 5 minutos, respectivamente). Las raíces de las plántulas se desinfectaron, previo al transplante, sumergiéndolas durante 30 seg. en una solución de hipoclorito de sodio al 2% (v/v). Posteriormente se enjuagaron con agua de la llave y se colocaron en bolsas negras de plástico de 3 l, que contenían una mezcla de sustrato de fibra de coco: agrolita (1: 3, v/v), estéril (120°C, 1 lb de presión, 1 h).

El inóculo se preparo con esporas de *G. intraradices* en medio líquido (3,500 esporas ml⁻¹), que se diluyó con un solución de fitagel (Sigma, P-8169) al 0.5% (w/v), para obtener una concentración final de 50 esporas ml⁻¹, aproximadamente. La viabilidad de las esporas (90%) se determinó antes de la preparación del inóculo (método del MTT).

La inoculación se realizó directamente en las raíces, con 2 ml del inóculo planta⁻¹ (100 esporas, aproximadamente), 18 días después del transplante. Un mes después de la inoculación, se comprobó la presencia de *G. intraradices* en el interior de las raíces (Vierheilig et al., 1998), mediante la observación al microscopio de las vesículas. El porcentaje (PC) de segmentos de raíces micorrizadas se estimó con el método del "gridline" (Giovannetti y mosse, 1980).

El experimento fue un diseño factorial completamente al azar, con dos factores: 1) Inoculación: plantas micorrizadas (PM) y no micorrizadas (PNM) y 2) La concentración de N en la solución de riego: 3, 6 y 18 mM. Lo que originó 6 tratamientos, con 3 repeticiones cada uno, 18 unidades experimentales, con 10 plantas cada una. El riego se realizó a saturación del sustrato, cada tercer día, con la solución nutritiva correspondiente. En todas las concentraciones, el N fue adicionado como NO_3^- , la proporción entre cationes se mantuvo constante y la concentración de SO_4^{2-} se varió para mantener el balance entre cationes y aniones.

En las concentraciones de N inferiores a 18 mM, la concentración de cationes se mantuvo constante (K^+ , 3.0; Ca^{2+} , 3.5; and Mg^{2+} , 1.5 mM) y la concentración de aniones fue de 13 meqL⁻¹. En la concentración de 18 mM la concentración de cationes fue: K^+ , 6.5; Ca^{2+} 7.5 y Mg^{2+} , 3.25 mM y la de aniones 28 MeqL⁻¹. En todas las soluciones nutritivas la concentración de fósforo fue de 0.3 mM, EDTA-Fe.1H₂O, 53 ppm y la concentración de microelementos fue: B, 0.22 ppm; Cu, 0.03 ppm; Fe, 0.6 ppm; Mn, 0.64 ppm; Mo, 0.027 ppm; Zn, 0.212 ppm. El pH se ajustó a 5.5, antes de cada riego.

Entre los días 140 y 160 días después del establecimiento del experimento se colectaron los frutos maduros. Al momento de la cosecha los frutos de cada unidad experimental se separaron en dos partes iguales. Una mitad del lote de frutos fue utilizada para la determinación del P, el D, la Lo y los °Brix. La lectura de los °Brix se realizó a 25°C con un refractómetro (N-1α). La otra mitad se congeló en N líquido y se almacenó a - 20 °C, posteriormente se liofilizó, se molió con N líquido (Mill Restsch, MM 200) y se liofilizó nuevamente. A la muestra liofilizada se le realizaron las determinaciones químicas y del color

Para la determinación de la AT se tomó 0.1 g de muestra liofilizada, se le agregaron 5 ml de agua destilada, la mezcla se mantuvo agitada mientras se titulaba con NaOH, 0.1N, hasta alcanzar un pH= 8.1. Los resultados se expresan en % de ácido cítrico (%AC).

La determinación del contenido de MAE y MIE se realizó con 0.20 g de muestra, a la que se le agregaron 10 ml de agua destilada, se sonicó 10 min (sonicador, Fisher Scientific, FS30H) y se centrifugó el mismo tiempo a 5,000 rpm. El sobrenadante se filtró con una membrana millipore de 0.45 μm . Para medir la concentración de MAE, a 1 ml del filtrado se le agregaron 9 ml de HCl, 0.5 M y 200 μl de óxido de lantano y para la medición de los MIE, a los 9 ml restantes se le agregaron 200 μl de HCl concentrado y se agitó 5 seg en vortex. La medición de todos los elementos se realizó por absorción atómica.

La extracción de azúcares solubles se realizó según el método propuesto por Gómez et al. (2002), modificada para frutos de fresa. A 15 mg de muestra liofilizada se le agregaron 4 ml de metanol:agua (1:1, v/v) y 1 ml de cloroformo. Se agitó 2 min en vortex y 30 min en un agitador horizontal (Labline, 4638), a velocidad media (ambas agitaciones a 4 °C), se centrifugó 30 min. (3,800 rpm, 4 °C) y 2.8 ml del sobrenadante se llevaron a un evaporador centrífugo, con trampa de frío (Labconco, 7810000) y el pellet se conservó a 4 °C. Un día después se agregó 2 ml de agua destilada al pellet y se agitó en vortex (20 min, 4 °C). El extracto acuoso se colocó en un tubo con 15 mg de polivinilpirrolidona (PVP, Sigma, cat. P6755) para eliminar los residuos fenólicos. Se agitó en vortex (20 min, 4 °C) y se centrifugó a 3,800 rpm, 90 min. Se recuperaron 1.5 ml del sobrenadante con una jeringa para insulina (aguja ultrafina), los que se congelaron a -20 °C para la medición de glucosa, fructuosa y sacarosa. Previo a la medición, se realizó la dilución 1:20 (v/v) del extracto, con agua destilada. La determinación se realizó por el método enzimático, en una microplaca de 96 pozos (Gomez, et al., 2007), en un fotómetro (Multiskan Ascent, Thermolabsystem, 354), a 340 nm. Se utilizó una curva de calibración de 0.0 a 0.2 g L⁻¹ de glucosa (Baker, cat. 1916-01) y controles de fructuosa (Sigma, cat. F0127) y sacarosa (Sigma, cat. S7903). Los resultados se expresan en mg g⁻¹.

El extracto para las determinaciones de los contenidos de FT, de Kuromanin (Ku), Callistefin (Call) y el color, se realizó con 0.1 g de muestra liofilizada, a la que se le agregó 5 ml de metanol-ácido clorhídrico (20% v/v), se sonicó 5 min y se centrifugó 10 min a 5,000 rpm.

La medición de FT se realizó con la técnica de Folin y Ciocalteau (1927). Para ello se utilizaron 0.5 ml del extracto, a los que se le agregaron 7.5 ml de agua destilada y 0.5 ml del reactivo de Folin & Ciocalteus (Sigma, cat. F-9592), se agitó en vortex 20 seg. y posteriormente se agregó 1.5 ml de Na_2CO_3 al 7% (p/v). El contenido de FT se midió a partir de una curva de calibración de ácido cafeíco (ACAF) expresada en mg L^{-1} de equivalentes de ACAF. El rango de linealidad de la curva fue de 0 - 250 g L^{-1} ACAF ($r^2 = 0.997$), que dio un rango de absorbancia de 0.066 – 2.020 AU. La lectura del color azul se realizó en un espectrofotómetro UV/vis (GBC, Cintra 10e) a 765 nm.

En el mismo extracto se midieron también los parámetros del color y los contenidos de Ku y Call. El color se midió en un colorímetro (Licor-2000, DR). Los resultados se expresan como L^* = luminosidad (va desde el negro al blanco), a^* = intensidad de rojo, en ausencia de azul o amarillo, b^* = intensidad de amarillo en ausencia de verde o rojo. El plano a^* y b^* puede ser visualizado como una esfera de color que es más clara o más oscura dependiendo de los valores de L^* . El eje L^* , tiene valores que van de 0 (negro o absorción total) a 100 (blanco, o reflexión total). Los ejes a^* y b^* tienen valores de -60 a 60, un valor hacia $-a^*$ indica la presencia del color verde, y hacia $+a^*$, el del rojo. Un valor hacia $-b^*$ indica la presencia del azul y $+b^*$ la del amarillo. Con estos valores se calcularon: a^*/b^* = evolución del color, Matiz = $\tan^{-1} b^*/a^*$ y cromaticidad (C^*) = $(a^2 + b^2)^{1/2}$. Matiz o color se expresa de 0° (rojo) a 90° (amarillo) y hasta 270° (azul). La C^* ó vivacidad va desde 0 (deslavado) a 60 (fuerte). También se midió la absorbancia a 500 nm ($A_{500 \text{ nm}}$), en un fotómetro (HP-8452A).

Para la determinación de los contenidos de Ku y Call se filtraron 10 μl del extracto, con una membrana de 0.45 μm , que se inyectaron a un equipo de cromatografía líquida (Marca Waters, Mod. 490E, programable). Los estándares utilizados fueron: cloruro de Call y cloruro de Ku (HPLC, Extrasynthese). Los tiempos de retención fueron de 13.85 a 14.1 min y de 17.3 a 17.7 min., respectivamente. Los resultados se expresan como $\mu\text{g g}^{-1}$.

La extracción de los CF se realizó mediante la hidrólisis con HCl 6M. A 0.25 g de muestra se le agregaron 7.5 ml de una solución de ácido ascórbico (280 mg de ácido ascórbico en 52.5 ml de H_2O destilada), 12.5 ml de metanol (pureza 99.5%, grado LC-

MS) y 5 ml de HCl 6M, y se agitó manualmente. La mezcla se sonicó 2 min, se reemplazó el aire por gas N (1-1.5 min) y se agitó 16 horas en un agitador horizontal (35 °C). La muestra fría se filtró con una membrana millipore de 0.45 µm. El filtrado se llevó a un rotavapor (35 °C) y el concentrado se redisolvió con 1.0 ml de metanol. La solución se filtró con una membrana millipore de 0.45 µm y se tomaron 10 µl del filtrado para la medición por HPLC. Los resultados se expresan en µg g⁻¹.

La AT, el color, los contenidos de FT, Ku, call, CF, MAE y MIE, se determinaron en “Hohere Bundeslehranstalt und Bundesamt für Wein-Und Obstbau Klosterneuburg” in Austria.

Los resultados de el P, el D, la Lo y los °Brix son el promedio de cuatro repeticiones (el valor de cada repetición es el promedio de las mediciones de todos los frutos, cosechados durante 3 fechas de muestreo, por cada unidad experimental). Para las determinaciones químicas y del color, el resultado es el promedio de cinco muestras por tratamiento (Cada muestra se obtuvo de la mezcla de los frutos cosechados por unidad experimental, de 3 unidades experimentales por tratamiento, durante 3 fechas de muestreo). En todos los casos se aplicó el análisis de varianza y cuando se determinaron diferencias significativas ($p < 0.05$) se aplicó la prueba de Tukey. Todo lo anterior con el programa SYSTAT for windows versión 9.01.

RESULTADOS

Los resultados que a continuación se presentan corresponden a los frutos de las plantas fertilizadas con 3, 6 y 18 mM de N, debido a que en las concentraciones de N inferiores de 3 mM no existió una producción suficiente para realizar el análisis químico y/o estadístico.

Al final del período de muestreo de frutos, 155 días después del establecimiento del experimento, el PC de las PM varió del 65% al 80% entre los diferentes tratamientos nitrogenados. Las PNM presentaron un PC menor del 25%, en la misma fecha de muestreo.

En la Tabla I se presenta el efecto de la concentración de N en la solución de riego, de la micorrización y de la interacción de ambos factores sobre el P, el D y la Lo de los frutos de plantas de fresa. Ninguna de estas variables fue afectada por los factores estudiados o por su interacción.

Tabla I. Peso (P), diámetro (D), y Longitud (Lo) de frutos de fresa de plantas micorrizadas (M) y no micorrizadas (NM) con *G. intraradices*, fertilizadas con diferentes concentraciones de nitrógeno en la solución de riego.

Tratamientos		MEDICIONES FISICAS		
		P (g)	D (mm)	Lo (mm)
concentración de Nitrógeno (N)	3.00 mM	14.19	29.82	33.01
	6.00 mM	13.14	29.29	32.20
	18.00 mM	13.36	29.29	32.63
		<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Inoculación (I)	M	13.39	29.30	32.20
	NM	13.73	29.63	32.63
		<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>
Interacción (N*I)	3.00 M	14.44	30.09	33.28
	3.00 NM	13.94	29.56	32.74
	6.00 M	12.47	28.82	31.87
	6.00 NM	13.80	29.76	32.53
	18.00 M	13.27	28.99	32.73
	18.00 NM	13.46	29.58	32.54
		<i>ns</i>	<i>ns</i>	<i>ns</i>

ns = sin diferencia significativa entre los diferentes tratamientos. $P > 0.05$, Tukey, $n = 5$.

La Tabla II muestra el efecto de los factores estudiados y su interacción, sobre algunas características ópticas de los frutos como: L^* , a^* , b^* , a^*/b^* , matiz, C^* y A500 nm. La concentración de N en la solución de riego generó efectos estadísticamente significativos sólo en la L^* y en la absorbancia A 500 nm. En el primer caso los frutos de las plantas de los tratamientos 3 mM y 18 mM de N presentaron los más altos valores, siendo estadísticamente iguales entre si y diferentes con respecto a los valores observados en los frutos de las plantas cultivadas a 6 mM de N. En el caso de la A500 nm se presentó un comportamiento inverso al anterior, fueron los frutos de las plantas de los tratamientos de 3 mM y 18 mM de N los que presentaron los valores más bajos y estadísticamente iguales entre si, siendo los frutos de las plantas cultivada a 6 mM de N los que presentaron el valor más alto de esta variable. La micorrización produjo efectos estadísticamente significativos en las propiedades ópticas estudiadas, con excepción de la a^*/b^* y el matiz. Los frutos de las PM presentaron 2.0% más de L^* que los frutos de las PNM. Inversamente, los frutos de las PNM mostraron un incremento en a^* , b^* , la C^* y la A500 nm de 14.3%, 12.9%, 13.9% y 21.2% respectivamente. La interacción de la concentración de N en las soluciones de riego y la micorrización no mostró efectos estadísticamente significativos en ninguna de las propiedades ópticas, estudiadas en este ensayo.

La Tabla III muestra el efecto de los tratamientos nitrogenados, de la micorrización y de su interacción sobre los °Brix, la AT y los contenidos de azúcares solubles en frutos de fresa. La AT, los °Brix, así como los contenidos de glucosa y de fructosa fueron modificados significativamente por la concentración de N en la solución nutritiva. Los frutos de las plantas fertilizadas con 6 mM de N tuvieron los más altos valores de AT, de glucosa y de fructosa. Estos valores fueron 6.3%, 12.1% y 12.5%, respectivamente superiores a los que presentaron los frutos de las plantas fertilizadas con 18 mM de N. Los frutos de las plantas fertilizadas con 3 mM de N en la solución de riego tuvieron valores de AT de glucosa y de fructosa estadísticamente iguales a los de las plantas regadas con soluciones nutritivas con 18 mM de N. Las plantas fertilizadas 18 mM de N en la solución de riego presentaron los más altos valores de °Brix. Este valor fue 19% superior a los que presentaron los frutos de las plantas fertilizadas con 3 mM de N en la solución de riego, los cuales fueron

estadísticamente iguales a los de las plantas de los tratamientos de 6 mM de N. La micorrización sólo modificó significativamente el contenido de glucosa. Las PNM mostraron un 8.5% más de este azúcar en sus frutos que las PM. La interacción entre la micorrización y los tratamientos nitrogenados sólo generó efectos significativos sobre la AT. En este caso los frutos de la PM regadas con 3 mM de N en la solución de riego presentaron un valor de AT significativamente menor que el de las PNM.

La Tabla IV presenta el efecto de los factores estudiados y su interacción sobre el contenido de MAE y MIE en los frutos de fresa. El contenido de los MAE y MIE evaluados fue afectado significativamente por los tratamientos nitrogenados, con excepción del contenido de Na y de Cu. El contenido de K, Mg, Fe y Zn se redujo 9.4%, 13.3%, 61.0% y 48.0%, respectivamente, al pasar de 3 mM a 18 mM de N en la solución de riego. El contenido de Ca presentó un comportamiento inverso, ya que se incrementó en un 11.3% al aumentar la concentración de N en la solución de riego de 3 mM a 18 mM. El contenido de Mn fue significativamente superior en los frutos de las plantas regadas con soluciones nutritivas con 3 mM y 18 mM de N y fueron diferentes a los de las plantas fertilizadas con 6 mM de N. La micorrización modificó significativamente los contenidos de K, Cu y Mn. En los dos primeros casos, los valores de los frutos de las PM fueron mayores y en el último, fue menor, que los de las PNM. La interacción de la concentración de N en la solución de riego y la micorrización generó efectos significativos en los contenidos de Ca, Cu, Fe, Zn y Mn. Los contenidos de K, Na y Mg mantuvieron las tendencias observadas en los efectos simples de ambos factores. El contenido de Ca se incrementó al aumentar concentración de N en la solución de riego, de 3.0 mM a 6.0 mM, solo en las PM, mientras que el de las PNM no presentó diferencias entre los tratamientos nitrogenados. El contenido de Cu fue superior y diferente significativamente en los frutos de las PM comparado con el de las PNM, solamente en los tratamientos de 3 mM y 6 mM de N en la solución de riego, manteniéndose sin diferencia en el tratamiento de 18 mM de N. El contenido de Fe se redujo significativamente con el aumento en la concentración de N en la solución de riego en las PM, sin embargo, este comportamiento se modifica en las PNM, ya que los frutos de los tratamientos

de 3 mM y 18 mM de N no presentaron diferencias significativas en el contenido de este MIE. Aunque el análisis del efecto simple del factor micorrización no arrojó diferencias estadísticamente significativas sobre el contenido de Zn en los frutos de fresa, su interacción con el factor concentración de N en la solución de riego, generó diferencias significativas en el contenido de este MIE en el tratamiento de 6 mM de N, en el cual las PM presentaron un 39.2% más de Zn en sus frutos que las PNM. La interacción de los factores estudiados produjo efectos estadísticamente significativos sobre el contenido de Mn en los frutos de las PM y PNM, solo en el tratamiento de 18 mM de N, en el cual los frutos de las PNM presentaron un contenido de 66% superior de este MIE.

En la Tabla V se muestran los resultados del efecto de la concentración de N en la solución de riego, de la micorrización y de la interacción de los dos factores sobre los contenidos de FT y CF en los frutos de las plantas de fresa. Los tratamientos nitrogenados produjeron diferencias estadísticamente significativas sobre los contenidos de FT, ácidos gallico (Ga), ferúlico (AF), ellágico (Ella), Ku, quercetina (Que) y kaempferol (Kam), en los frutos de fresa, mientras que los de ácido p-coumarico (P-Cu), Call y catequina (Ca) y no fueron afectados por este factor. Las plantas fertilizadas con 18 mM de N, presentaron el valor más alto de FT. Este fue 21% superior a los que presentaron los frutos de las plantas fertilizadas con 3 mM de N e la solución de riego, que fue estadísticamente igual al de las plantas del tratamiento 6 mM de N. Al aumentar la concentración de N en la solución de riego, de 3 mM a 18 mM, los contenidos de Ga y Ku se incrementaron en 45% y 12.9% respectivamente, mientras que los de Ella, Que y Kam se redujeron en 17.0%, 33.0% y 38%, en el mismo orden. El mayor contenido de AF se observó en los frutos de las plantas regadas con soluciones de riego con 6 mM de N. Este contenido fue estadísticamente superior al observado en los frutos de las plantas cultivadas a 3 mM y 18 mM de N. La micorrización modificó significativamente los contenidos de los CF estudiados con excepción de los de Call y Ca. Los frutos de las PM presentaron contenidos superiores de P-Cu, Ku, Que y Kam en 20.0%, 15.0%, 50.0% y 28.6%, respectivamente, e inferiores de Ga, AF y Ella en 29.0%, 50.0% y 11.0% en el mismo orden, que los de las PNM. La interacción de la concentración de N en la solución de

riego y la micorrización fue estadísticamente significativa para los contenidos de FT, Ga, Ella, Ku y Kam, mientras que los de P-Cu, AF, Call, Que y Ca, mantuvieron las tendencias observadas por los efectos simples de los factores estudiados. En el caso de los FT, éste se incrementó en respuesta del aumento de la concentración de N en la solución de riego, únicamente en los frutos de las PNM. Los contenidos de P-Cu, Ku, Que y Kam fueron estadísticamente superior y los de Ga, AF y Ella estadísticamente inferior, en los frutos de las PM fertilizadas con 6 mM de N, con respecto a los de sus homólogas PNM.

Tabla II. Luminosidad (L*), intensidad de rojo (a*), intensidad de amarillo (b*), evolución del color (a* / b*), matiz, cromaticidad (C*) y absorbancia a 500 nm, de frutos de fresa, de plantas micorrizadas (PM) y no micorrizadas (NM) con *G. intraradices*, fertilizadas con diferentes concentraciones de nitrógeno.

Tratamientos		color						
		L*	a*	b*	a* / b*	matiz	C*	500 nm
concentración de Nitrógeno (N)	3.00 mM	84.93 a	27.69	17.16	1.62	31.77	32.59	0.54 b
	6.00 mM	83.31 b	31.07	19.79	1.57	32.47	36.85	0.64 a
	18.00 mM	84.31 a	29.50	18.18	1.63	31.66	34.67	0.57 ab
		*	ns	ns	ns	ns	ns	*
Inoculación (I)	M	84.99 a	27.45 b	17.26 b	1.59	32.21	32.44 b	0.52 b
	NM	83.37 b	31.38 a	19.49 a	1.62	31.73	36.95 a	0.63 a
		**	**	*	ns	ns	**	**
Interacción (N*I)	3.00 mM M	85.72 a	25.98	16.52	1.57	32.47	30.80	0.48 b
	3.00 mM NM	84.14 ab	29.40	17.80	1.66	31.07	34.38	0.59 ab
	6.00 mM M	83.80 ab	29.40	18.68	1.57	32.56	34.85	0.60 ab
	6.00 mM NM	82.82 b	32.74	20.90	1.56	32.38	38.85	0.68 a
	18.00 mM M	85.46 ac	26.98	16.58	1.63	31.59	31.69	0.50 b
	18.00 mM NM	83.16 bc	32.02	19.78	1.62	31.72	37.65	0.63 ab
		ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Matiz = $(\tan^{-1} b/a)$, cromaticidad = $(a^2 + b^2)^{1/2}$. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) por Efecto de cada factor, entre los diferentes tratamientos. Tukey, $n=5$. * = diferencia significativa ($p < 0.05$), ** = diferencia altamente significativa ($p < 0.001$), *** = diferencia altamente significativa ($p < 0.001$). ns = sin diferencia significativa.

Tabla III. Grados Brix (°Brix), acidez titulable (AT) y contenidos de azúcares solubles, en frutos de fresa de plantas micorrizadas (PM) y no micorrizadas (NM) con *G. intraradices*, fertilizadas con diferentes concentraciones de nitrógeno en la solución de riego.

Tratamientos		Azúcares solubles (mgg ⁻¹ dm)						°Brix
		AT	Glucosa	Fructuosa	Sacarosa			
concentración de Nitrógeno (N)	3.00 mM	1.280 b	136.628 b	148.960 b	94.155			4.929 b
	6.00 mM	1.360 a	153.207 a	167.543 a	62.682			5.391 ab
	18.00 mM	1.300 b	140.503 ab	149.349 b	83.067			6.085 a
		**	*	**	ns			*
M		1.300	139.854	148.989 b	80.450			5.960
NM		1.330	147.038	161.579 a	79.486			5.990
Inoculación (I)		ns	ns	*	ns			ns
Interacción (N*I)	3.00 mM M	1.210 c	132.020 c	141.962 c	113.098			5.050 bc
	3.00 mM NM	1.350 ab	141.236 bc	155.958 bc	75.212			4.808 c
	6.00 mM M	1.380 a	146.342 bc	158.846 bc	45.826			5.300 abc
	6.00 mM NM	1.340 ab	160.072 ab	176.240 ab	79.538			5.483 abc
	18.00 mM M	1.310 ab	141.200 bc	146.158 c	82.426			6.168 a
	18.00 mM NM	1.280 bc	139.806 bc	152.540 bc	83.708			6.002 ab
		***	ns	ns	ns			ns

dm = materia seca. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) por efecto de cada factor, entre los diferentes tratamientos. Tukey, $n=5$. * = diferencia significativa ($p < 0.05$), ** = diferencia significativa ($p < 0.01$), *** = diferencia altamente significativa ($p < 0.001$). ns = sin diferencia significativa.

Tabla IV. Contenido de macro y micronutrientes en frutos de fresa, de plantas micorrizadas (M) y no micorrizadas (NM) con *G. intraradices*, fertilizadas con diferentes concentraciones de nitrógeno.

Tratamientos	Macronutrientes (mgg ⁻¹ dm)					Micronutrientes (µg g ⁻¹ dm)						
	K	Na	Ca	Mg		Cu	Fe	Zn	Min			
concentración de Nitrógeno (N)	3.00 mM	2.09	15.09 b	15.04 a	2.50	6.6	a	11.10	a	9.90	a	
	6.00 mM	1.69	16.25 ab	14.03 ab	2.50	4.6	b	10.10	a	7.10	b	
	18.00 mM	2.25	16.79 a	13.28 b	2.70	4.1	b	7.50	b	9.30	a	
	***	ns	**	**	ns	**		***		***		
Inoculación (I)	M	1.93	15.86	13.75	2.80	a	4.80	9.80	7.70	b		
	NM	2.09	16.24	14.49	2.30	b	5.40	9.30	9.90	a		
	**	ns	ns	ns	***		ns	ns	***			
Interacción (N*I)	3.00 mM M	2.00	14.14 b	14.65 a	3.10	a	6.30	ab	10.70	abc	9.20	b
	3.00 mM NM	2.19	16.05 ab	15.43 a	1.80	b	6.90	a	11.50	ab	10.60	ab
	6.00 mM M	1.49	16.98 a	14.03 ac	2.90	ad	5.20	abc	11.70	a	6.80	c
	6.00 mM NM	1.89	15.52 ab	14.04 ac	2.10	be	4.00	bc	8.40	bcd	7.40	c
	18.00 mM M	2.30	16.44 a	12.56 bc	2.50	cde	2.90	c	7.00	d	7.00	c
	18.00 mM NM	2.19	17.15 a	13.99 ac	2.90	ac	5.30	abc	8.00	cd	11.60	a
	ns	ns	**	ns	***	*	**	***		***		

dm= materia seca . Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0.05) por efecto de cada factor, entre los diferentes tratamientos. Tukey, n=5. * = diferencia significativa (p<0.05), ** = diferencia significativa (p<0.01), ***= diferencia altamente significativa (p<0.001). ns = sin diferencia significativa.

Tabla V. Contenidos de fenoles totales (FT) y compuestos fenólicos en frutos de fresa, de plantas micorrizadas (M) y no micorrizadas (NM) con *G. intraradices*, fertilizadas con diferentes concentraciones de nitrógeno en la solución de riego.

		Compuestos fenólicos ($\mu\text{g g}^{-1} \text{dm}$)											
Tratamientos	FT ($\text{mg g}^{-1} \text{dm}$)	ácidos fenólicos						Flavonoides					
		Ga	P-Cu	AF	Ella	Ku	Call	Que	Kam	Ca			
concentración de Nitrógeno (N)	3.00 mM	11.00 b	99.00	1.00 b	753.00 a	248.00 b	3370.00	3.00 a	21.00 a	249.00			
	6.00 mM	10.00 b	96.00	2.00 a	699.00 ab	275.00 a	3710.00	2.00 b	15.00 b	219.00			
	18.00 mM	16.00 a	100.00	1.00 b	622.00 b	280.00 a	3545.00	2.00 b	13.00 b	368.00			
	***	***	<i>ns</i>	**	*	*	<i>ns</i>	**	**	<i>ns</i>			
Inoculación (I)	M	10.00 b	107.00 a	1.00 b	681.00 b	287.00 a	3692.00	3.00 a	18.00 a	322.00			
	NM	14.00 a	89.00 b	2.00 a	765.00 a	249.00 b	3391.00	2.00 b	14.00 b	236.00			
	<i>ns</i>	***	**	*	***	***	<i>ns</i>	**	*	<i>ns</i>			
Interacción (N*I)	3.00 mM M	11.00 bc	109.00 ab	1.00 b	633.00 bc	258.00 bc	3564.00	4.00 a	21.00 a	324.00			
	3.00 mM NM	11.00 bc	89.00 ab	1.00 b	873.00 a	238.00 b	3176.00	3.00 ab	21.00 a	174.00			
	6.00 mM M	6.00 c	113.00 a	1.00 b	595.00 c	314.00 a	4198.00	3.00 ab	20.00 a	233.00			
	6.00 mM NM	14.00 ab	78.00 b	2.00 a	803.00 ab	236.00 b	3222.00	2.00 c	10.00 b	206.00			
	18.00 mM M	13.00 ab	99.00 ab	1.00 b	626.00 bc	288.00 ac	3314.00	3.00 ac	13.00 ab	408.00			
	18.00 mM NM	747.290 a	101.00 ab	1.00 b	618.00 c	272.00 ab	3776.00	2.00 bc	12.00 ab	328.00			
	*	*	<i>ns</i>	*	*	*	<i>ns</i>	<i>ns</i>	*	<i>ns</i>			

dm = materia seca, Ga = ácido gálico, P-cu = ácido p-cumárico, AF = ácido ferúlico, , Ella = ácido elálgico, Ku=kuromanin, Call= callistefin, Que = quercetina, Kam = Kaempferol, Ca= catequina, Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) por efecto de cada factor, entre los diferentes tratamientos. Tukey, $n=5$. * = diferencia significativa ($p < 0.05$), ** = diferencia significativa ($p < 0.01$), ***= diferencia altamente significativa ($p < 0.001$). ns = sin diferencia significativa.

DISCUSION

Algunos parámetros importantes en la calidad de los frutos de fresa incluyen: el grado de madurez, el color, la firmeza, el sabor, el aroma, los valores nutricionales y el tamaño. Las variables involucradas en el tamaño de los frutos son el P, el D y la Lo. Estos parámetros de calidad son afectados por diversos factores que incluyen aspectos ambientales y fisiológicos, entre ellos, la nutrición mineral de las plantas.

Con respecto a la fertilización nitrogenada nuestros resultados muestran que las concentraciones de N evaluadas, no modificaron significativamente el P, el D y la Lo de los frutos de fresa. Estos resultados son similares a los reportados por Crisosto et al. (1997), quienes encontraron que la aplicación de altas concentraciones de N en durazno y nectarina no incrementaron el tamaño de los frutos.

Los valores estadísticamente iguales en el P, el D y la Lo de los frutos de las PM y PNM difieren a los determinados en plantas de chile ancho (*Capsicum annuum L. cv San Luis*) inoculadas con *G. fasciculatum*, en donde las PM produjeron frutos de mayor P, D y Lo (Mena-Violante et al., 2006) y a los reportados para PM de cebolla (*Allium cepa L.*) que produjeron bulbos de mayor D que las PNM (Charron et al., 2001). El resultado anterior puede explicarse por la especificidad HMA-hospedero (Varma y Schuepp, 1994). A este respecto, Mena-Violante et al (2006), encontraron que la respuesta de la planta de chile ancho a la inoculación, sobre el tamaño del fruto, varió con el HMA empleado.

Además del tamaño, el color también es un factor determinante de la calidad de la fresa. El parámetro L*, nos indica la luminosidad del fruto y el matiz y la C* son parámetros empleados en la descripción del color ya que cuantifican la pureza e intensidad del rojo (Sacks y Shaw, 1993, Wang y Camp, 2000).

La concentración de N en la solución de riego, modificó el color de los frutos de fresa. Los de las plantas fertilizadas con 6 mM de N fueron mas rojos (mayor A500nm) y más oscuros (menor valor de L*), que los de las plantas fertilizadas con 18 mM de N. Estos resultados son similares a los reportados por Crisosto et al. (1997), quienes

determinaron que el incremento de la concentración de N en la fertilización de nectarina, provocó una disminución en el color de los frutos. Es conveniente señalar que los valores determinados en este estudio, para el matiz y la C*, están en el rango de los determinados para frutos de fresa cv Aromas (Pelayo-Saldivar et al., 2005).

Los frutos de las PM fueron más oscuros (menor valor de L*), menos rojos (menor A500nm) y con menor vivacidad (menor valor de C*). Estos resultados son similares a los reportados por Mena-Violante et al. 2006, quienes determinaron que las plantas de chile ancho inoculadas con *G. fasciculatum*, produjeron frutos con menor vivacidad que los frutos de las plantas control. Estos resultados sugieren que la micorrización modifica la síntesis y/o la expresión de pelargonidin-3 glucósido y cianidin-3 glucósido, principales antocianinas en las fresas, responsables del color en los frutos (Gil et al, 1997). En este trabajo no se evaluaron los contenidos de ambos compuestos.

La interacción nitrógeno-micorriza no modificó significativamente los parámetros de color evaluados, lo que indica que la concentración de N no modificó el efecto de la micorrización y viceversa.

El sabor de la fresa está determinado por el balance del contenido de azúcares y de ácidos (Wozniak et al. 1997; Kallio et al, 2000). La glucosa, la fructuosa y la sacarosa representan el 99% del contenido total de carbohidratos de la fresa (Pérez et al., 1997) por lo que tienen una participación importante en la calidad sensorial de estos frutos. De los ácidos, el AC contribuye con un 92% a la acidez, seguido del ácido málico con un 9% (Cordenunsi et al., 2002). Los °Brix son un indicativo, principalmente, del contenido de azúcares y después del de ácidos orgánicos y pectinas solubles.

En los resultados obtenidos en este estudio, los valores de la AT y los °Brix variaron de 1.21%-1.38% y de 5.6-6.4, respectivamente, en todos los tratamientos. Estos valores están dentro de los reportados para fresas, que van de 0.5%-1.87% y de 5-12, para la acidez y °Brix, respectivamente (Perkins-Veazie, 1995a). Los contenidos de glucosa y fructuosa fueron mayores que el contenido de sacarosa y en todos los

casos, la relación fructuosa/glucosa fue de 1.1, similar a los reportado para frutos de fresa (Pelayo, et al., 2005).

La concentración de N en la solución de riego tuvo efecto significativo en la AT, los contenidos de glucosa y fructuosa y los °Brix. Las plantas fertilizadas con 6 mM de N tuvieron frutos más ácidos y con mayor contenido de glucosa y fructuosa, sin diferencia significativa en los °Brix. Este resultado puede explicarse como consecuencia del AF que las plantas fertilizadas con 6 mM de N presentaron al inicio de la tpa de fructificación, que fue 35.9% y 25.3% superior al de las plantas regadas con soluciones 3 y 18 mM de N, respectivamente (datos no mostrados), lo que le permitió una mayor producción de fotosíntatos, que fueron traslocados a los frutos. En base a lo sugerido por Mitcham (1996), que altos contenidos de azúcares y porcentajes de acidez dan lugar a frutos con muy buena calidad en el sabor, estos frutos fueron de mejor calidad, que los de las plantas cultivadas con 3 y 18 mM de N.

La micorrización únicamente tuvo efecto significativo en el contenido de fructuosa. Sin embargo, los frutos de la PM, tuvieron menor contenido de este azúcar, así como de glucosa y de AT, que los frutos de las PNM. Estos resultados indican que la micorrización disminuyó la acumulación de los compuestos carbonados (azúcares y ácidos) en los frutos y pueden explicarse por la cantidad de carbono fijado por la planta, que es utilizado por el hongo y que se ha estimado es del 4-20% (Douds et al., 2000).

La interacción del N y la micorrización no produjeron diferencias significativas en ninguna de las variables evaluadas. Lo anterior indica, que la concentración de N en la solución de riego, no modifico el efecto de la micorrización y la micorrización no modificó el efecto de la concentración de N.

La mayoría de las plantas requieren de elementos que obtienen del suelo a través de sus raíces y que conforman lo que se denomina nutrición mineral. Estos contribuyen aproximadamente el 4% de la materia seca de la planta y son importantes en la calidad del fruto, ya que constituyen un gran número de compuestos orgánicos o actúan como activadores de reacciones enzimáticas, importantes para su crecimiento

y desarrollo. Además de la calidad de la fruta, la incidencia de fisiopatías y su aptitud frente a la conservación frigorífica, están muy relacionadas con los contenidos de minerales de los frutos y los equilibrios existentes entre ellos (Roca et al., 1993, Fallahi et al., 1997)

En el presente trabajo se determinó que la concentración de N en la solución de riego modificó significativamente los contenidos de K, Ca, Mg, Fe, Zn y Mn.

Los mayores contenidos de K, Mg, Fe y Zn en los frutos de las plantas fertilizadas con 3 mM de N, diferentes significativamente a los de los frutos de las plantas fertilizadas con 18 mM, indican que las primeras exploraron un mayor volumen del suelo, por lo que adquirieron en mayor cantidad estos elementos, que traslocaron a los frutos. Lo anterior se soporta con los valores del peso seco de la raíz de 2.0 y 1.7 g planta⁻¹ y del volumen de 22.0 y 14.8 cm³planta⁻¹, para las plantas fertilizadas con 3 mM y 18 mM de N, respectivamente, a los 155 días después del transplante (datos no mostrados). A este respecto, Ruffy et al. (1988) señalan que una baja disponibilidad de N en el suelo, incrementa la cantidad de fotosintatos traslocados a las raíces y Tolley-Henry & Raper (1986) sugieren que en condiciones de baja disponibilidad de N, las raíces tienen la prioridad de este elemento, lo que promueve su crecimiento.

La micorrización modificó significativamente únicamente los contenidos de K, Cu y Mn, siendo el contenido de este último menor en los frutos de las PM. Aunque la colonización micorrizica, frecuentemente resulta en un incremento en la acumulación de MAE y MIE en las hojas y parte aérea de las plantas (Kaya et al., 2003; Ghazi, et al., 2001; Clark, 1997), Liu et al. (2000) determinaron el menor contenido de Cu, Zn, Mn y Fe en la parte aérea de plantas de maíz micorrizadas. Los resultados inconsistentes del efecto de la colonización micorrizica en la adquisición de nutrientes inmóviles por las plantas, se han atribuido a cambios en la rizosfera causados por el incremento en la concentración de N en el suelo, que afecta el desarrollo de la micorriza(Clark y Zeto, 2000). Previo a este trabajo no tenemos conocimiento de trabajos que indiquen el comportamiento de los MAE y MIE en los frutos de PM.

La interacción de los factores evaluados, modificó significativamente los contenidos de Ca, Cu, Fe, Zn y Mn, en los frutos de las plantas de fresa. Las plantas de fresa se beneficiaron de la asociación con *G. intraradices*, en la acumulación de Cu, Fe y Zn, cuando las plantas se regaron con solución 6 mM de N, no sucedió lo mismo en los contenidos de los MAE y la mayoría de los MIE, cuando estas se regaron con 3 y 18 mM de N, y hubo un efecto negativo de la micorización en el contenido de Mn, cuando las plantas se fertilizaron con 18 mM de N. Resultados similares de la menor, igual o mayor adquisición de MAE y/o MIE, dependiente de la fertilización mineral, ha sido reportado en plantas de lechuga (*Lactuca sativa L.*) micorrizadas con *G. mosseae* (Azcon et al, 2003). La pérdida del beneficio de la asociación de las plantas de fresa con el HMA, en el contenido de algunos MIE en sus frutos, cuando se fertilizaron con 18 mM de N, sugiere que esta concentración de N en la solución de riego, tuvo un efecto negativo en el desarrollo del micelio extraradical del HMA, lo que afectó consecuentemente la adquisición y traslocación de estos nutrimentos de la planta a los frutos. La supresión del micelio extraradical en condiciones de altas concentraciones de N y su efecto en la disminución de la adquisición de nutrimentos de las PM, ha sido reportada por Gryndler et al. (2001).

Los CF, metabolitos secundarios de las plantas, son importantes en la salud humana, debido a su actividad antioxidante, anticancerígena e inhibidores de la actividad de agregación plaquetaria (Rein, et al., 2000; Waterhouse et al, 1998). Estos compuestos son constituyentes comunes de frutos y vegetales y se ha demostrado que las protegen de la depredación de los insectos y animales herbívoros (Stevenson et al., 1993), de la foto-oxidación y/o de las infecciones fúngicas y bacterianas (Duval et al, 1999; Kwok y Shetty, 1999). En las fresas, los CF tienen un papel importante en la percepción astringente de estos frutos (Perkins-Veazie, 1995 b).

Aunque la síntesis y la degradación de los CF es afectada por la composición del suelo (Femenia et al., 1998), el efecto de la fertilización nitrogenada sobre el contenido de estos compuestos en los frutos, ha sido poco estudiado.

Los resultados del presente trabajo demostraron que los contenidos de Ella, Que y Kam disminuyeron, los de FT, Ku y Ga aumentaron significativamente y los de AF se

mantuvieron igual, cuando la concentración de N en la solución de riego cambió de 3mM a 18 mM de N. Resultados similares del decremento en los contenidos de Que y Kam, con la adición de altas concentraciones de N, son reportados en frutos de jitomate (*Lycopersicon esculentum*) por Stewart et al. (2001) y del mayor contenido de Ella en los frutos de las plantas fertilizadas con una baja concentración de N, son reportados en frutos de fresa (Anttonen et al. 2006). Además, Keller y Hrazdina (1998) reportaron que la concentración de N provocó diferentes efectos en la concentración de algunos CF en uvas. Estos investigadores determinaron que la aplicación de altas concentraciones de N, provocó la disminución de la acumulación de flavonoles y el incremento del porcentaje de malvidin-3-glucoside, pero la proporción de antocianinas fue igual, que cuando se aplicó una baja concentración de N.

Nuestros resultados pueden explicarse por el efecto que la concentración de N tiene sobre las diferentes rutas de síntesis de los CF. Una explicación del incremento de la síntesis de flavonoides (Ku, Kam y Que) en condiciones de bajo N, es el incremento de la actividad de la enzima fenilalanina amonio liasa, la cual libera N para el metabolismo de los aminoácidos y los productos carbonados son desviados via 4-coumaroil-CoA, a la ruta biosintética de los flavonoides (Margna, 1977).

La micorrización modificó significativamente los contenidos de la mayoría de los CF evaluados. Los contenidos de Ku, P-cu, Que y Kam fueron mayores y los de Ga, AF y Ella fueron menores, en los frutos de PM que en los de las PNM. Previo al presente trabajo, no tenemos conocimiento de reportes que indiquen el efecto de los HMA en la acumulación de CF en los frutos, sin embargo, resultados similares del cambio del contenido de estos compuestos se reportan en PM, pero a nivel de la raíz. Grandmaison et al (1993), determinaron que *G. intraradices* incrementó los contenidos de P-cu, AF y N-feruloytiramina en raíces de *Allium cepa* y de gliceolina en *Glycine max* y Harrison y Dixon (1993) reportaron que *G. versiforme* incrementó el contenido de Daidzeina y no modificó el de malonyl glucósido en *Medicago sativa*. Estos resultados indican que la respuesta de las plantas a la inoculación con el HMA, no solo se lleva a cabo a nivel radical, sino que se extiende a otros órganos, en nuestro caso, a los frutos.

Únicamente los contenidos de Cu y Ga en los frutos de las PM, fueron modificados significativamente con el cambio de la concentración de N en la solución de riego y las diferencias significativas en la acumulación de CF de los frutos de PM y PNM se determinaron cuando las plantas se regaron con 6 mM de N. Estos resultados indican que la fertilización nitrogenada modifica la respuesta de la planta a la interacción con HMA. En nuestro conocimiento, este es el primer reporte que señala el efecto de la concentración de N, sobre la acumulación de CF en frutos de fresa.

CONCLUSION

La calidad físico-química de los frutos, está determinada por la nutrición mineral de las plantas también puede ser modificada por la interacción éstas con microorganismos del suelo, como los HMA. Los resultados de esta investigación muestran que las concentraciones de 3, 6 y 18 mM de N en la solución de riego, no modificaron significativamente el P, el D y la Lo de las fresas, ni los parámetros del color, a excepción de la L y la A500nm. El efecto significativo existió en la AT, los °Brix, los contenidos de glucosa, fructuosa, de los MAE (con excepción del Na), de los MIE (con excepción del Cu), de los FT y de la mayoría de los CF (con excepción de Call, Ca y P-Cu). Los frutos de las plantas fertilizadas con 6 mM de N presentaron diferencias significativas en la mayoría de las variables evaluadas, con respecto a los de las plantas regadas con 3 y/o 18 mM de N. La micorrización, tampoco modificó el tamaño, sin embargo, si tuvo un efecto significativo en la mayoría de los parámetros del color y en los contenidos de K, Cu, Mn y la mayoría de los CF. La acumulación de los nutrimentos y de los CF, en los frutos de las PM varío dependiendo del elemento y/o compuesto evaluado. La interacción de los factores estudiados, no modificó el P, el D, la Lo ni los parámetros del color, sin embargo tuvo un efecto significativo en la AT, el contenido de Ca y todos los MIE medidos. Los contenidos de FT, Ku, Ga, Ella y Kam, también fueron afectados significativamente por la interacción de la concentración de N y la micorrización. La concentración de N en la solución nutritiva, afectó significativamente la AT, los °B y los contenidos de K, Ca, Cu, Fe, Zn, Mn, Ku y Ga, en los frutos de las PM. Las diferencias significativas en los contenidos de Cu, Zn, Ku, Ga, P-cu, Ella, Que y Kam, existió entre las fresas de las PM y PNM, cuando se regaron con solución nutritiva 6 mM de N.

Anterior a este trabajo existen reportes que señalan que la contribución de los HMA en el hospedero es afectada por la concentración de N en el suelo, sin embargo, estos estudios se han realizado a nivel de la planta. En el presente trabajo se demuestra que existe un comportamiento similar a nivel de los frutos.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo otorgado por Fondos Mixtos CONACYT- Gobierno del Estado de Michoacán, para la realización de este trabajo, a través del financiamiento del proyecto 12268 "Optimización de los aportes de N y del agua en el cultivo de la fresa (*Fragaria x ananassas* Duch). También se agradece el apoyo brindado por el Dr. Philippe Lobit, Sandra y Silvia Velasco López, Flor Lorena Reyes Sánchez y Alejandrino López Hernández, estudiantes de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, en Morelia, Michoacán, México y a la Ing. Verónica Schober, Monika Marek y Karin Korntheuer del Institut für chemie, Höhere Bundeslehranstalt und Bundesamt für Wein- und Obstbau, Klosterneuburg, Austria.

REFERENCIAS

- Alarcón, A., Ferrera-Cerrato, R. y González-Chavez, M.C., Villega-Monter, A. (2000). Hongos Micorrizicos arbusculares en la dinámica de aparición de estolones y nutrición de plantas de fresa Cv. Obtenidas por cultivo in vitro. *Terra* 18:211-218.
- Anttonen, M.J., Hoppuls, K.I., Nestby, M.J., Karjalainen, R.O. (2006). Influence of fertilization, mulch color, early forcing, fruit order, planning date, shading, growing environment, and genotype on the contents of selected phenolics in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits. *J. Agr. Food Chem.* 54:2614-2620.
- Auge, R.M. (2001). Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*. 11:3-42.
- Azcón, R., Ambrosano, E. y Charest, C. (2003) Nutrient acquisition in mycorrhizal lettuce plants under different phosphorus and nitrogen concentration. *Plant Sci.* 165:1137-1145.
- Azcón, R. y Ruíz-Lozano, J.M., Rodríguez, R. (2001). Differential contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to plant nitrate uptake (^{15}N) under increasing N supply to the soil. *Can J. Bot.* 79: 1175-1180.
- Bago, B., Vierheilig, H., Piché, Y. y Azcón-Aguilar, C. (1996). Nitrate depletion and pH changes induced by the extraradical mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *New Phytologist*. 133:273-280.
- Borkowska, B. (2002). Growth and photosynthetic activity of micropropagated strawberry plants inoculated with endomycorrhizal fungi (AMF) and growing under drought stress. *Act. Physiol. Plant.* 24:365-370.
- Charron, G., Furlan, V., Bernier-Cardou, M. y Doyon, G. (2001). Response of onion plants to arbuscular mycorrhizae. I. Effects of inoculation method and phosphorus fertilization on biomass and bulb firmness. *Mycorrhiza* 11:187-197.

Clarke, R. B. (1997). Arbuscular mycorrhizal adaptation, spore germination, root colonization and host plant growth and mineral acquisition at low pH. *Plant Soil* 192:15-22.

Clarke, R. B. y Zeto S. K. (2000). Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *J. Plant Nutr.* 23: 867-902.

Cordenunsi, B., Oliveira, J., Genovesse, M. & Lajolo, F. (2002). Influence of cultivar on quality parameters and chemical composition of strawberry fruits grown in Brazil. *J. Agric. Food Chem.* 50:2581-2586.

Corkidi, L., Rowland, D.L., Jonson, N.C. & Allen, E. J. (2002). Nitrogen fertilization alters the functioning of arbuscular mycorrhizas at two semiarid grasslands. *Plant and soil.* 240: 299-310.

Crisosto, C.H., Johnson, R.S. y DeJong, T. (1997). Orchard factors affecting postharvest stone fruit quality. *HortScience*, 32: 820-823.

Douds, D.D., Pfefer, P.E. y Shachar-Hill, Y. (2000). Carbon partitioning, cost and metabolism of arbuscular mycorrhizas: physiology and function. In: Kapulnick Y., Douds DDJ, eds, *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 107-129.

Duval, B., Shetty, K, Thomas, W. H. (1999). Phenolic compounds and antioxidant properties in the snow alga *Chlamydomonas nivalis* after exposure to UV light. *J. Appl. Phycol.* 11:559-566.

Estrada-Luna, A.A., Davies, F.T. y Egilla, J.N. (2000). Mycorrhizal fungi enhancement of growth and gas exchange of micropropagated guava plantlets (*Psidium guajava* L.) during ex vitro acclimatization and plant establishment. *Mycorrhiza.* 10:1-8.

Fallahi, E., Conway, W., Hickey, K., Sams, C. (1997). The role of calcium and nitrogen in postharvest quality and disease resistance of apples. *HortScience* 32:831-835.

Femenia, A. Robertson J.A., Waldron, K.W. (1998). Cauliflower (*Brassica oleraceae* L.) globe artchoke (*Cynara scolymus*) and chicory witloof (*Cichorium intybus*) processing by-products as source of dietary fibre. *Sci. Food Agric.* 77:511-518.

Folin, C. & Ciocalteau, V. (1927). Tyrosine and tryptophan determination in proteins. *J. Biol. Chem.* 73:627-650.

Ghazi, N., Al-Karaki-Hammand R., y Rusan, M. (2001). Response of two tomato cultivars differing in salt tolerance to inoculation with mycorrhizal fungi under salt stress. *Mycorrhiza.* 11:43-47.

Gil, M.I., Holcroft, D.M., Kader, A.A. (1997). Changes in strawberry anthocyanins and other polyphenols in response to carbon dioxide treatments. *J. Agric. Food. Chem.* 45:1662-1667.

Giovannetti M. y Mosse B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection on roots. *New Phytol.* 84:489-500.

Gomez, L., Bancel, D., Rubio, E. y Varcambre, G. (2007). The microplate reader: an efficient tool for the separate enzymatic analysis of sugars in plant tissues-validation of a micro-method. *J. Sci. Food Agric.* 87:1893-1905.

Gomez, L., Rubio, E. y Augé, M. (2002). A new procedure for extracción and measurement of soluble sugars in ligneous plants. *J. Sci. Food Agric.* 82:360-369.

Grandmaison, J., Olah, G.M., Van Calsteren, M.R. y Furlan, V. (1993). Characterization and localization of plant phenolics likely involved in the pathogen resistance expressed by endomycorrhizal roots. *Mycorrhiza* 3:155-164.

Graham, J.H. (2000). Assessing costs of arbuscular mycorrhizal symbiosis agroecosystems fungi. In: Podila GK, Douds DDJ, eds. *Current Advances in mycorrhizae research*. St. Paul, MN, USA: APS Press, 127-140.

Gryndler, M., Hrselova, H., Vosatka, M. Votruba, J. y Klir, J. (2001). Organic fertilization changes the response of mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi and their sporulation to mineral NPK supply. *Folia Microbiol.* 46:540-542.

Harrison, M. y Dixon, R.A. (1993). Isoflavonoid accumulation and expression of defense gene transcripts during the establishment of vesicular-arbuscular mycorrhizal associations in roots of *Medicago truncatula*. *MPMI* 6:643-654.

Heinonen, I.M., Meyer, A.S. y Frankel, E.N. (1998). Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *J. Agric Food Chem.* 46:4107-4112.

Hopkins, W. 1995. Introduction to plant physiology. Ed. John Wiley. 464 pp.

Jifon, J., Graham, J.H., Drouillard, D.L. y Syvertsen, J.P. (2002). Growth depression of mycorrhizal Citrus seedlings grown at high phosphorus supply is mitigated by elevated CO₂. *New Phytol.* 153:133-142.

Johansen, A., Jakobsen, I. y Jensen, E.S. (1993). Hyphal transport by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus of N applied to the soil as ammonium or nitrate. *Biol. Fertil. Soils.* 16: 66-70.

Kahkonen, M.P., Hopia, A.I. y Heinonen, M. (2001). Berry phenolics and their antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 49:4076-4082.

Kallio, H., Hakala, M., Pelkkikangas, A. & Lapvetelainen, A. (2000). Sugars and acids of strawberry varieties. *Eur, Food Res. Technol.* 212:81-85.

Kaya, C., Higgs, D., Kirnak, H. & Tas, I. (2003). Mycorrhizal colonization improves fruit yield and water use efficiency in watermelon (*Citrullus lanatus Thunb.*) grown under well-watered and water-stressed conditions. *Plant and Soil* 253:287-292.

Keller, M. y Hrazdina, G. (1998). Interaction on nitrogen availability during bloom and light intensity during veriaison II. Effects on anthocyanin and phenolic development during grape ripening. *Am. J. Enol. Vitic.* 49:341-349.

Kwok, D. y Shetty, K. (1997). *Pseudomonas* spp-mediated regulation of total phenolic and rosmarinic acid levels in shoot-based clonal lines of thyme (*Thymus vulgaris* L.). *J. food Biochem.* 20:365-377.

Liu, A., Hamel, C., Hamilton, R.I., Ma, B.L., Smith, D.L. (2000). Acquisition de Cu, Zn, Mn y Fe by mycorrhizal maize (*Zea mays* L.) grown in soil at different P and micronutrient levels. *Mycorrhiza* 9:331-336.

Margna, U. (1977). Control at the level of substrate supply-an alternative in the regulation of phenylpropanoid accumulation in plant cells. *Phytochemistry.* 16:419-426.

Mena-Violante, H.G., Ocampo-Jimenez, O., Dendooven, L., Martínez-Soto, G, González-Castañeda, J., Davies, F. T. Jr. y Olalde-Portugal, V. (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi enhance fruit growth and quality of chile ancho (*Capsicum annum* L. cv San Luis) plants exposed to drought. *Mycorrhiza.* 16:261-267.

Mitcham, B. (1996). Quality assurance for strawberries: A case study. *Perishables handling Newsletter.* 85: 6-8.

Mosse, B. y Hayman, D. S. (1971). Plant response to vesicular-arbuscular mycorrhiza. II. En: unsterile field soils. *New Phytol.* 70: 29-34.

Niemi, M. y Vestberg M. (1992). Inoculation of commercially grown strawberry with VA mycorrhizal fungi. *Plant and Soil.* 144:133-142.

Pelayo-Saldívar, C., Ebeler, E. S. y Kader, A. A. (2005). Cultivar and harvest date effects on flavor and other quality attributes of california strawberries. *J. food Quality.* 28: 78-97.

Pérez, A. Olías, R., Espada, J., Olías, J. & Sanz, C. (1997). Rapad determination of sugars, nonvolatile acids, and ascorbic acid in strawberry and other fruits. *J. Agric. Food Chem.* 45:3545-3549.

Perkins-Veazie, P y Collins, J.K. (1995a). Strawberry fruit quality and its maintenance in postharvest environments. *Adv. Strawberry Res.* 14:1-8.

Perkins-Veazie, P. (1995 b). Growth and ripening of strawberry fruti. *Hort. Rev. (Amer. Soc. Hort. Sci.)*.17: 267-297.

Roca, J., Recasensi, I. y Casero, T. (1993). Predicción de fisiopatías mediante el análisis de minerales en manzanas Goleen delicious. *Act. Hort.* 1:596:601.

Rufty Jr. T.W., Huber, S.C. y Volk, R.J. (1988). Alterations in leaf carbohydrate metabolism in response to nitrogen stress. *Plant Physiol.* 88:725-730.

Sacks, E. & Shaw, D. (1993). Color change in fresh strawberry fruit of seven genotypes stored at 0°C. *Hort Sci.* 28:209-210.

Simard, S. W., Jones, M. D. y Durall, D.M. (2002). Carbon and nutrient fluxes within and between mycorrhizal plants. In *Mycorrhizal Ecology*. Eds. M.G.A. van der Heijden and I.R. Sanders. Springer-Verlag, Berlin.157:33-74..

Stewart, A.J., Chapman, W., Jenkis, G.I., Graham, I., Martin, T. & Crozier, A. (2001).The effect of nitrogen and phosphorus deficiency on flavonol accumulation in plant tissues. *Plant Cell Environ.* 24:1189-1197.

Tolley-Henry L. y Raper Jr. C.D. (1986). Expansion and photosynthetic rate of leaves of soybean plants during onset of and recovery from nitrogen stress. *Bot. Gaz.* 147:400-406.

Varma, A. y Schuepp, H. (1994). Infectivity and effectiveness of *Glomus-intraradices* on micropropagated plants. *Mycorrhiza.* 5:29-37

Vestberg, M., konen, S., Neuvonen, E.L. y Uosukainen, M. (2000). Mycorrhizal inoculation of micropropagated strawberry-case studies on mineral soil and a mined peat bog. *Acta Hort.* 530:297-304.

Vierheilig, H., Coughlan, A.P., Wyss, U. y Piché, Y. (1998). Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 12:5004-5007.

Wang, S. Y., Bunce, J.A. y Maasl, J.L. (2003). Elevated carbon dioxide increase contents of antioxidant compounds in field grown strawberries. *J. Agric. Food Chem.* 51:4315-4320.

Wang, S. & Camp, M. (2000). Temperatures after bloom affect plant growth and fruit quality of strawberry. *Sci. Hortic.* 85:183-199.

Wang, H., Cao, G. y Prior, R.L. (1996). Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.* 44:701-705.

Wozniak, W., Radajewska, B., Reszelska-Siecichowicz, A. y Dejwor, I. (1997). Sugars and acid content influence organoleptic evaluation of fruits of six strawberry cultivars from controlled cultivation. *Acta Hort.* 439:333-336.

REFERENCIAS

- Bethlenfalvay, G.J. y Schuepp, H. 1994. Arbuscular mycorrhizas and agrowystem stability. In: Gianinazzi S, Schuepp, H., eds. Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems. Basel, Switzerland: Birkhauser Verlag, 117-131.
- Cárdenas-Navarro R., Sánchez-Yañez, J.M, Farías-Rodríguez, R. y Peña-Cabriales, J.J. 2004. Los aportes de nitrógeno en la agricultura. Revista Chapingo, Serie Horticultura 10: 173-178.
- Darrow, George M. 1966. The Strawberry: History, Breeding and Physiology, New York: Holt, Rinehart and Winston.
- González-Guerrero, M., Azcón-Aguilar, C., Money, M., Valderas, A., MacDiarmid, C.W., Eide, D.J. y Ferrol, N. 2005. Characterization of a *Glomus intraradices* gene encoding a putative Zn transporter of the cation difusión facilitator family. Fungal Genetics and Biology. 42:130-140.
- Harrier, L. A. y Watson, C. A. 2004. The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioproteccion of plants against soil-borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems. Pest Management Science. 60:149-157.
- Hendrix, J.W., Jones, K.J, Nesmith, W.C. 1992. Control of pathogenic mycorrhizal fungi in maintenance of soil productivity by crop-rotation. Journal of production agriculture 5: 383-386.
- Jennings, D.H. 1995. The physiology of fungal nutrition. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Johansen, A., Jakobsen, I. y Jensen E.S. 1994. Hyphal N transport by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus associated with cucumber grown at three nitrogen levels. Plant and soil. 160:1-9.

- Jonson, N.C., Graham, J.H., Smith, F.A. 1997. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New phytologist* 135: 575-586.
- Kaya, C., Higgs, D., Kirnak, H. y Tas, I. 2003. Mycorrhizal colonization improves fruit yield and water use efficiency in watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.) grown under well-watered and water-stressed conditions.
- León-Gallegos, H. M. y Martínez-Téllez, J. J. 2004. Producción de fresa en invernadero. Memorias del Congreso Internacional de Hidroponía 2004, Una nueva cultura agrícola al alcance de todos. Gobierno del Estado de Chihuahua, Universidad Autónoma de Chihuahua y la Sociedad Chihuahuense de Hidroponía. Chihuahua, Chih. México. p. 217.
- Pawlowska, T.E. y Charvat, I. 2004. Heavy-metal stress and developmental patterns of arbuscular mycorrhizal fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 6643-6649.
- Rodríguez D. A., Chang, R. M., Hoyos, R. M. y Falcón, G. F. 2004. Manual práctico de hidroponía (4ta. Edición). Universidad Nacional Agraria La Molina, Centro de Investigación de hidroponía y nutrición Mineral. Lima, Perú.
- Plan Rector “Estrategia de fortalecimiento del sistema-producto fresa en el Estado de Michoacán”. Morelia, Mich. Agosto del 2004.
- Schreiner, R.P. y Bethlenfalvay, G.J. 1995. Mycorrhizal interactions in sustainable agriculture. *Critical Reviews in Biotechnology.* 15: 271-287.
- Sudzuki, F. 1983. Cultivo de frutales menores. Universitaria S.A., Santiago de Chile. 194 pp., Biblioteca INIA Quilamapu, Chillán, Chile.

DISCUSION GENERAL

En hidroponía, el sustrato y la fertilización son factores importantes para el desarrollo de las plantas. En el presente trabajo se determinó que ambos también afectaron la

respuesta de las plantas de fresa a la inoculación con *G. intraradices*, cuando se cultivaron en este sistema.

Con respecto al sustrato, el mayor beneficio de la inoculación, en el desarrollo del AF, lo obtuvieron las plantas que crecieron en el sustrato con menor capacidad de retención hídrica y de nutrimentos (0C4A). Este resultado se apoya con lo reportado por la mayoría de los investigadores, que señalan que los HMA ayudan a las plantas a sobrevivir en condiciones de estrés hídrico o baja disponibilidad de nutrimentos. Sin embargo, la selección del sustrato 1C3A se realizó porque en él las PM tuvieron el mismo desarrollo del AF y mayor crecimiento de la CO, un factor importante si se considera que ésta es un reservorio de compuestos (nutrimentos, aminácidos, lípidos, azúcares, etc) fundamentales en el rendimiento y la calidad de los frutos.

Los resultados también determinaron que el sustrato fue un factor importante en el PSRM de las plantas y que este se relaciona con el efecto del HMA en el huésped. Estos resultados se soportan porque el incremento de C en el sustrato disminuyó el PSRM en las plantas inoculadas y el mayor beneficio de la interacción lo obtuvieron las plantas con el mayor valor de esta variable. Aunque anterior a este trabajo no se había evaluado el efecto del sustrato sobre el PSRM y en la respuesta de la planta a la interacción con HMA, De silva et al. (1996), determinaron que existió una correlación positiva entre el PSRM con *G. intraradices* y el desarrollo del AF de plántulas de fresa “Sweetheart”.

Con respecto a la concentración de N en la solución de riego, los resultados mostraron que durante el establecimiento del hongo (crecimiento vegetativo de la planta) fue importante que existiera en la rizosfera una cantidad adecuada de N que le permitiera a la planta enviar fotoasimilados a las raíces para el sostenimiento y desarrollo del hongo, para que este a su vez adquiriera y le proporcionara la planta los nutrimentos que necesita para su crecimiento. De otra manera, el costo que le representó a la planta el sostenimiento del hongo provocó un detrimento de su crecimiento. Esto se soporta con lo observado en el desarrollo del AF y PS de las H y de la planta cuando las PM se regaron con concentraciones bajas y altas de N. Los resultados observados en las plantas con 3.0 mM de N sugieren que en este caso,

como existió suficiente disponibilidad de N, la planta no necesitó dirigir más carbono para el crecimiento de las raíces, por lo que lo dirigió al desarrollo del AF, lo que repercutió en una mayor producción de fotoasimilados que fueron suficientes para cubrir la demanda del HMA en las raíces y este a su vez, a través de una mayor cantidad de hifas extraradicales, exploró una mayor área del suelo (sustrato) por lo que incrementó la cantidad de nutrimentos y de agua que estuvieron disponibles para la planta y que finalmente se reflejó en el mayor crecimiento de las PM con respecto a las PNM. En las PM fertilizadas con 6.0 mM de N, se sugiere un comportamiento similar, únicamente que el mayor PSRM provocó que fuera mayor la demanda de fotoasimilados hacia las raíces por lo que no se observó el mismo efecto en desarrollo del AF de las PM. Los resultados anteriores son diferentes a los reportados por la mayoría de los investigadores, quienes señalan que los HMA producen un mayor beneficio en las plantas cuando están en condiciones de déficit de nutrimentos y que su efecto se inhibe en altas concentraciones de N. Sin embargo los resultados obtenidos se pueden explicar por el rango de concentraciones de N evaluadas y que aún la concentración mayor, no sea suficiente para inhibir el efecto de *G. intraradices*.

La contribución del HMA en la adquisición de N y en la mayor acumulación de este elemento en la hojas de las plantas, determinada a partir de la curva de N crítico, sugieren que *G. intraradices* incrementa la cantidad de N que la planta adquiere del suelo y/o disminuye la senescencia de las hojas. Resultados similares de la mayor acumulación de de N en la planta son reportados por Azcón et al (2003) quienes encontraron un mayor contenido de este elemento en las hojas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) inoculadas con *G. mosseae* y fertilizadas con diferentes concentraciones de N y P.

Aunque se determinó que durante la etapa vegetativa (48 días) y al final de la etapa de fructificación (155 días), el mayor efecto de la inoculación sobre el AF y el crecimiento de la planta, lo presentaron las fertilizadas con 3.0 mM de N, no sucedió lo mismo con la calidad de los frutos, en donde se observó que la calidad física no fue afectada por la concentración de N en la solución de riego, lo que se explica por el rango de concentraciones evaluadas. La calidad química, sin embargo, si fue

afectada por la concentración de N, la micorrización y la interacción de los factores. Los frutos de las plantas fertilizadas con 6.0 mM de N presentaron mayores contenidos de glucosa, fructuosa y AT, parámetros importantes cuando se determina la calidad de los frutos.

El efecto de la micorrización en el color de los frutos, que fueron más oscuros, menos rojos y con menor vivacidad y el hecho de que en las fresas de las plantas fertilizadas con 6 mM de N se determinaran diferencias significativas en el contenido de algunos MIE y el contenido de la mayoría de los CF evaluados, indica que *G. intraradices* afectó la adquisición de nutrimentos del suelo (sustrato) y el metabolismo de C de la planta y este efecto estuvo determinado por la concentración de N en la solución de riego. La mayoría de los trabajos realizados reportan la contribución de los HMA en la modificación del metabolismo de C y en la mayor adquisición de nutrimentos del suelo y el aporte de estos al hospedero, sin embargo, estos efectos se han evaluado a nivel de la planta.

En el presente trabajo se demostró *G. Intradices* modificó el estado nitrogenado de las plantas de fresa cv. Aromas en etapa productiva y que su efecto sobre el crecimiento de estas plantas y la calidad de los frutos fue modificada por la fertilización nitrogenada.

SUGERENCIAS

En el presente trabajo se determinó que *G.intraradices* incrementó el AFy los pesos secos de las H y de la planta total, cuando estas se fertilizaron con 3 y 6 mM de N, aunque el mayor incremento de estas variables se observó en las fertilizadas con 3 mM de N. Sería interesante evaluar concentraciones entre 0.3 y 3.0 mM, para determinar si entre ellas existe una concentración en donde se obtenga un mejor o similar efecto del HMF en las variables arriba descritas.

También se determinó que las PM presentaron una menor dilución del N a lo largo de su desarrollo. Sin embargo, en la presente investigación no se determinó si este efecto se debió a que estas plantas produjeron mayor cantidad de hojas nuevas o el HMA afectó la senescencia de las hojas.

Por último, los resultados obtenidos del mayor contenido de algunos MIE y de algunos CF en los frutos de las PM fertilizadas con 6.0 mM de N, sugiere que en las vacuolas las células de estos órganos, existe una mayor cantidad de solutos, por lo que hay una disminución del potencial hídrico y como consecuencia una mayor retención de agua. En este trabajo no se determinó el peso seco de los frutos y resultaría interesante determinar si esta posible retención de agua tiene un efecto en el tiempo de vida de anaquel de los frutos.