

Revisión bibliográfica ASPECTOS RELACIONADOS CON LAS BASES BIOQUÍMICAS DE LA SIMBIOSIS MICORRÍZICA ARBUSCULAR

Yakelin Rodríguez✉

ABSTRACT. In recent years, agricultural investigations are aimed at looking for solutions where soil microorganisms play a main role because they contribute to agroecosystem recovery, they allow the partial or total substitution of chemical agents, besides their low production cost and the possibility of being produced from renewable local resources. In Cuba and other countries, a wider use of biofertilizers has been put into practice and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are among them. These fungi report numerous benefits to colonized plants, such as yield increments, nutritional improvements, protection against root pathogens and environmental damage decrease. Therefore, the economic and ecological importance of AMF, is evident, a special attention to basic studies concerning this symbiotic interaction has been conceded, where biochemical and molecular aspects are key for understanding the narrow and coordinated dialogue established between both symbionts, whose exchange defines the functional compatibility and symbiosis efficacy as such.

RESUMEN. Las investigaciones en el contexto agrícola, en los últimos años, se han dirigido a buscar soluciones donde los microorganismos del suelo juegan un papel protagónico, pues contribuyen a la recuperación de los agroecosistemas, permiten la sustitución parcial o total de los agentes químicos, además de su bajo costo de producción y la posibilidad de fabricarse a partir de recursos locales renovables. En Cuba y otros países, se han dado pasos acelerados para poner en práctica el uso de los biofertilizantes, entre los que se encuentran los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), resultando numerosos los beneficios que le reportan estos hongos a las plantas que colonizan, dentro de los cuales se destacan el incremento de los rendimientos, las mejoras nutricionales, protección contra patógenos de la raíz y disminución de daños causados por factores medioambientales. Lo expuesto evidencia la importancia económica y ecológica de dichos hongos, de ahí que en los últimos años se le ha prestado especial atención a los estudios básicos concernientes a esta interacción simbiótica, donde los aspectos bioquímico-moleculares son claves en la comprensión del diálogo estrecho y coordinado que se establece entre ambos simbiosis, cuyo intercambio define la compatibilidad funcional y eficacia de la simbiosis como tal.

Key words: fungi, vesicular arbuscular mycorrhizal, biochemistry, symbiosis

Palabras clave: hongos, micorrizas arbusculares vesiculares, bioquímica, simbiosis

LAS MICORRIZAS

El término *mycorrhiza* se aplicó por primera vez a las peculiares asociaciones entre las raíces de los árboles y los hongos ectomicorrízicos en 1885 (1); posteriormente, al término se le incorpora la segunda *r*, tras una polémica discusión. En 1887, Frank reconoció la distinción entre micorrizas ecto y endotróficas; de esta forma, el nombre de la simbiosis

micorrízica ha cambiado a través de los años. En particular las micorrizas arbusculares (MA) pudieron haber sido descritas desde 1842 (2) pero sus dibujos solo alcanzaron a semejarse remotamente a una MA (3).

Se estima que aproximadamente el 90 % de las especies vegetales existentes pueden formar micorrizas y que unas 6 000 especies de hongos son capaces de colonizar la raíz de la planta para establecer la simbiosis. Esta gran diversidad de los organismos implicados da lugar a numerosos tipos de micorrizas, que han sido clasificadas teniendo en cuenta criterios morfológicos, fisiológicos y taxonómicos. Se pueden distinguir así tres grupos fundamen-

tales, según la estructura de la micorriza formada: ectomicorrizas o formadoras de manto; ectendomicorrizas, que incluye arbutoides y monotropoides, y las endomicorrizas, caracterizadas por la colonización intracelular del hongo, y que a su vez se subdividen en ericoides, orquidoides y arbusculares (4).

Las endomicorrizas se caracterizan por la penetración inter e intracelular, pero sin la formación de manto ni modificaciones morfológicas evidentes en las raíces, la zona de colonización por el hongo está limitada al cortex sin llegar a penetrar nunca la endodermis y, por tanto, el cilindro vascular. Como consecuencia de su establecimiento en la raíz, se induce la actividad de varias

Ms.C. Yakelin Rodríguez, Investigador Agregado del Laboratorio Micorrizas, Departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, km 3½, Gaveta Postal 1, CP. 32 700, San José de las Lajas, La Habana, Cuba

✉ yakelin@inca.edu.cu

enzimas asociadas a los mecanismos de defensa en planta, pero a diferencia de las infecciones producidas por hongos patógenos la respuesta es localizada, transitoria y de menor magnitud (5).

Pertencen al grupo de las endomicorrizas de acuerdo con su estructura, las micorrizas ericoides y orquidoides, puesto que colonizan intracelularmente las células de la epidermis y del córtex de la raíz, las que son formadas por plantas de las familias *Ericaceae* y *Orchidaceae*, respectivamente, siendo los hongos formadores pertenecientes a los Ascomicetos y Basidiomicetos (6). También están incluidas en este grupo las micorrizas arbusculares, las cuales se describen a continuación con mayor detalle.

MICORRIZAS ARBUSCULARES (MA)

Las MA son el tipo de más amplia distribución geográfica y las más abundantes en la naturaleza, ya que se establecen entre el 80 y el 90 % de las especies vegetales estudiadas hasta la fecha, entre ellas, la mayoría de las que presentan interés agronómico (7). Se encuentran tanto en ecosistemas naturales como en los modificados. En contraste con el alto número de especies botánicas que forman este tipo de simbiosis, se estima que la pueden originar solamente unas 150 especies de hongos agrupados (8), como aparece en la Figura 1.

Las plantas y sus micorrizas tienen una historia evolutiva común, ya que los registros fósiles de plantas más antiguos que se conocen presentan en sus primitivas raíces unas estructuras similares a las de las actuales MA. De acuerdo con ello, estos hongos tendrían una antigüedad de unos 460 millones de años, igual que las plantas, es decir, que se generan en el periodo Ordovicio (9). Este hecho se ha corroborado en estudios que utilizan técnicas de biología molecular, sobre datación, filogenia y evolución de los hongos formadores de micorrizas arbusculares y su asociación con las plantas (10, 11).

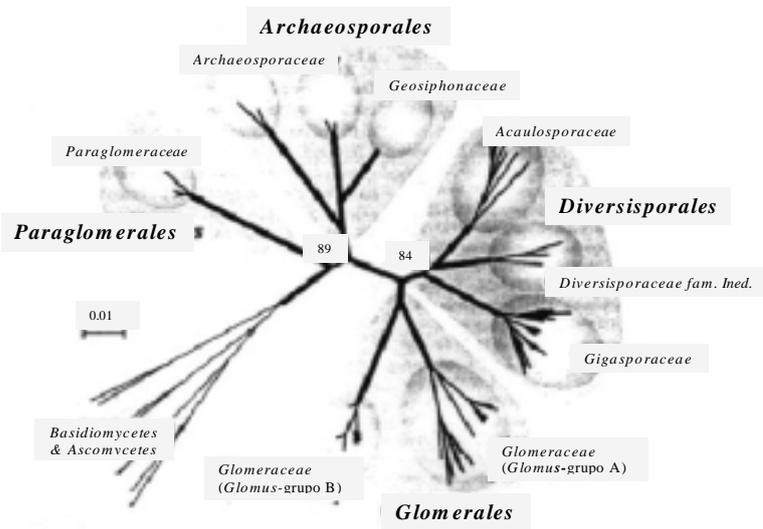


Figura 1. Clasificación actual de los HMA y sus relaciones filogenéticas (8)

El largo período de vida en común de las plantas y sus hongos asociados ha condicionado una co-evolución de ambos tipos de organismos, que se manifiesta por el elevado grado de mutualismo y dependencia que los simbioses muestran entre sí. Como consecuencia de tal co-evolución, la mayoría de las plantas son "micotróficas", ya que necesitan estar micorrizadas para lograr un desarrollo óptimo, mientras que el hongo es un simbionte obligado y que no puede completar su ciclo de vida en ausencia de una planta hospedadora (12).

Las plantas dependen en mayor o menor grado del establecimiento de la simbiosis para crecer adecuadamente. Esta dependencia, denominada *grado de micotrofia*, es especialmente relevante en la mayoría de las plantas arbóreas de interés agrícola o industrial (13). El grado de micotrofia puede llegar a ser extremo en especies con un sistema radical poco desarrollado, que no es capaz de aportar nutrientes al ritmo que la planta necesita para cubrir sus necesidades fisiológicas.

DESARROLLO DE LA SIMBIOSIS

La formación de la simbiosis MA es un complejo proceso caracterizado por distintos estadios del establecimiento del hongo (Figura 2), donde se distinguen las siguientes fases (6):

1. germinación de la espóra, la cual se ve estimulada por la presencia de los exudados radicales y está influida por determinados microorganismos del suelo y, fundamentalmente, por sus condiciones físico-químicas.
2. formación del apresorio sobre las células epidérmicas, producto del aumento de la presión hidrostática en la zona apical de la hifa infectiva
3. penetración radical a través de los pelos radicales o de las células epidérmicas, por la combinación de procesos mecánicos y enzimáticos
4. crecimiento intercelular a partir de la hifa de penetración que se extiende entre las células de la epidermis hacia la corteza de la raíz, sin penetrar el sistema vascular ni los meristemos radicales
5. desarrollo del micelio extramatricial en el suelo con la formación de las estructuras ramificadas de absorción, las que aumentan considerablemente la superficie de absorción de la planta y su capacidad para captar nutrientes y agua
6. formación de arbusculos intracelularmente, con el consiguiente aumento en la superficie de contacto entre el hongo y la planta. También se pueden formar vesículas y células auxiliares, en dependencia de la especie fúngica
7. formación de esporas, cerrándose el ciclo de vida de los HMA.

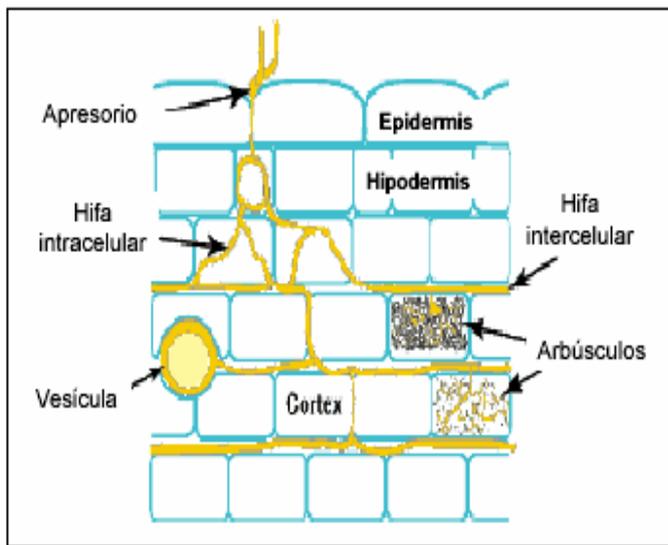


Figura 2. Desarrollo de la colonización radical por el hongo MA (18)

MECANISMOS DE REGULACIÓN IMPLICADOS EN EL RECONOCIMIENTO Y ESTABLECIMIENTO DE LA SIMBIOSIS MA

El funcionamiento de la simbiosis MA implica un alto grado de coordinación e integración morfo-fisiológica entre los dos simbioses. Hoy se sabe que el establecimiento de la simbiosis es el resultado de un continuo diálogo molecular entre la planta y el hongo, ejercido por el intercambio de señales de reconocimiento (14), aunque la naturaleza de las señales implicadas y su modo de acción apenas empieza a descifrarse. La identificación y clonación de los genes de la planta implicados, así como el conocimiento de los sistemas de señales que intervienen en la formación y el funcionamiento de la simbiosis, son objeto de gran interés en la actualidad (15, 16, 17).

Parece que el reconocimiento entre ambos simbioses y, por tanto, el intercambio efectivo de señales, se realiza durante las distintas etapas de la interacción:

- ★ A nivel rizosférico, que se manifiesta mediante la estimulación del desarrollo del hongo por los exudados radicales de plantas susceptibles de ser micorrizadas.

- ★ Cuando se producen los primeros contactos célula-célula, que conducen a la formación de apresorios sobre la epidermis radical de plantas hospederas.
- ★ A nivel de la zona colonizada, ya que el hongo experimenta una morfogénesis diferencial según la zona de la corteza radical colonizada.
- ★ En estadios más avanzados para alcanzar la integración de la fisiología propia de ambos simbioses y la redistribución de actividades enzimáticas (6, 19).

El intercambio de señales y el reconocimiento entre ambos simbioses comienza durante la fase extrarradical de desarrollo del hongo. Entre los compuestos que han sido propuestos como moléculas señal en estas primeras etapas de la simbiosis, se encuentran los flavonoides, isoflavonoides y compuestos fenólicos, los cuales, al parecer, promueven la germinación y el crecimiento del micelio (20, 21). Sin embargo, su función como verdaderos inductores del establecimiento de la simbiosis está en dudas, pues estudios *in vitro* realizados con plantas transformadas (22) demostraron que los flavonoides no son necesariamente las señales moleculares que estimulan el crecimiento hifal dada su ausencia, siendo otros los metabolitos que la producen en este caso. En contraste con estos resul-

tados, se detectó inhibición de la germinación y la elongación de las hifas de *G. intraradices* por medicarpin, sugiriendo que la colonización de raíces de alfalfa por este hongo probablemente dependa de la supresión de la producción de este isoflavonoide (23).

Las hifas del micelio se ramifican profusamente antes de entrar en contacto con la raíz, las que solo se han observado en la vecindad de las plantas hospederas.

Por otra parte, el uso de fragmentos purificados de la pared celular de plantas hospederas y no hospederas ha permitido concluir que para la formación del apresorio no es necesaria una señal citoplasmática, tan solo se requiere un sitio adecuado para la adhesión de la hifa a la pared, cuyo sitio estaría determinado por caracteres químicos y/o topológicos de esta, puesto que se desarrollaron apresorios sobre las paredes de células epidérmicas de plantas hospederas y no en las células del cilindro vascular de estas plantas ni en la pared de células pertenecientes a plantas no hospederas (24).

En un principio, los estudios sobre los mecanismos básicos de la respuesta de las plantas a la colonización por HMA se han basado en el análisis diferencial de polipéptidos solubles de raíces micorrizadas y no micorrizadas. Estos han demostrado la existencia de numerosas modificaciones cualitativas y cuantitativas en distintos estadios de la interacción planta-hongo, al detectarse la aparición de nuevas proteínas específicas de la simbiosis, así como el aumento o la disminución en la concentración de proteínas presentes en plantas no micorrizadas (25, 26). Los polipéptidos inducidos por la simbiosis MA se han llamado "endomicorrizinas" (25) y su origen resulta muy difícil de dilucidar, ya que pueden ser fúngicos o vegetales.

Es importante destacar que el genoma de la planta hospedera ejerce cierto control sobre la mayoría de las estructuras micorrizadas; un ejemplo lo constituye el hecho que se

establezca uno u otro tipo de colonización, *Arum* o *Paris*, lo cual depende de la combinación hongo - planta hospedera y es precisamente la planta, y no el endófito, quien determina la relación (27).

GENES INVOLUCRADOS

Numerosos estudios realizados evidencian la expresión de varios tipos de genes para el exitoso establecimiento de la simbiosis MA (28, 29). Según Harrier (30) los tres grupos principales son: 1) genes característicos de la nodulación, 2) genes asociados con los mecanismos de defensa en planta y 3) genes relacionados con la organización de la interfase y el funcionamiento de los HMA.

Genes de nodulación. Las respuestas morfológicas que tienen lugar en las células radicales al ser colonizadas por *Rhizobium* y por los HMA resultan diferentes a simple vista. No obstante, estudios genéticos y moleculares han demostrado que ambos procesos de colonización son muy similares, dado que involucran eventos relacionados. De hecho, se han identificado algunos genes que son inducidos durante ambas interacciones simbióticas, tales como: los genes de nodulinas tempranas *ENOD 2* y *ENOD 40* (31), *ENOD 5* y *ENOD 12* (28), el gen de la leghemoglobina *VFLb 29* (32) y el gen que codifica para una glicoproteína parecida a la lectina (*PsNLEC-1*) (33).

La conservación de ciertas señales en los dos tipos de simbiosis ha sido apoyada por estudios realizados con plantas mutantes que han perdido la capacidad de formar nódulos y de micorrizarse efectivamente (Nod-/Myc-). Así, en guisante se han identificado los genes *sym 8*, *sym 9* y *sym 19*, que son esenciales para las primeras etapas de ambas asociaciones, siendo las plantas mutantes para estos genes incapaces de formar un cordón de colonización micorrízica (34).

La expresión de genes que participan en la simbiosis es constituti-

va en las plantas susceptibles y puede ejercer el control de la expresión de los genes de defensa en las interacciones simbióticas (35), mientras que su represión en mutantes *myc* pudiera estar asociada a la incompatibilidad de la interacción por la resistencia de la planta (36).

Genes de defensa. En los últimos años se han llevado a cabo investigaciones acerca de la inducción de mecanismos de defensa en la planta huésped durante el establecimiento y desarrollo de la simbiosis MA (37). Es obvio que estos hongos no pueden inactivar la reacción de defensa de la planta totalmente, porque sería más vulnerable al ataque de patógenos. Por el contrario, el proceso de reconocimiento como simbionte (o el bloqueo de la defensa) deberá reiniciarse a cada nuevo contacto celular, resultando en la represión puntual de los mecanismos de defensa o en su modulación (38).

Generalmente, la respuesta se produce de forma transiente y es de menor magnitud que la inducida por las interacciones planta-patógeno, las que frecuentemente son suprimidas en los estadios posteriores de la interacción (29).

Este patrón de expresión sugiere la participación de compuestos que pueden actuar como elicitores en los primeros estadios de la formación de las micorrizas, constituyendo los glucanos, los oligómeros de N-acetil glucosamina, algunos péptidos de bajo peso molecular y los oligómeros pépticos posibles candidatos (39).

La síntesis de fitoalexinas y otros compuestos de origen similar constituyen una de las respuestas primarias locales desencadenadas por las plantas frente al ataque de patógenos, la cual involucra enzimas que intervienen en la vía de los fenilpropanoides, como son: la fenilalanina amonio liasa (PAL), la chalcona sintasa (CHS) y la chalcona isomerasa (CHI), entre otras. En este sentido, se han realizado estudios en raíces de alfalfa colonizadas por *G. intraradices* y por *G. versiforme*, donde se ha ob-

servado inducción transiente de PAL y CHS, así como la acumulación de ARNm de estas enzimas, fundamentalmente en estadios tempranos de la simbiosis (40, 41).

Por otra parte, se conoce que las quitinasas y β -1,3-glucanasas son enzimas relacionadas con la patogénesis (PR-proteínas), ya que participan en la respuesta de defensa activa de las plantas contra patógenos fúngicos (42). Estas enzimas catalizan la hidrólisis de polisacáridos, que constituyen los principales componentes de las paredes celulares de muchos hongos.

Al respecto, se ha descrito una inducción transitoria de actividades quitinasa y β -1,3-glucanasa, en raíces micorrizadas de diferentes especies vegetales, en estadios tempranos de la colonización (43, 44). En contraste, se detectó la reducción de la expresión en raíz de una quitinasa básica durante la simbiosis con *Glomus intraradices* en tabaco (45), así como la acumulación de ARNm de genes de quitinasa ácida clase III en estadios tardíos de la micorrización en *Medicago truncatula* (39). Estos resultados sugieren que existe una regulación en la expresión de estas enzimas por el hongo durante la simbiosis MA; sin embargo, se ha explorado poco acerca de la influencia que pudiera tener el genotipo de la planta sobre dicha regulación.

De forma interesante, se ha observado que la acumulación de ARNm de CHS, así como las actividades β -1,3-glucanasa y quitinasa se ven limitadas a las células que contienen arbusculos (46, 47, 48).

En las plantas micorrizadas se han detectado alteraciones en los niveles de algunas hormonas, entre las cuales podemos mencionar el ácido abscísico, el etileno, el ácido jasmónico, el ácido salicílico, las auxinas y las citoquininas (49, 50). Estas hormonas constituyen componentes reguladores de gran importancia durante el establecimiento de la simbiosis MA, cuyo balance puede modular la expresión de los genes relacionados con la defensa (51,52).

Según lo expuesto anteriormente, parece necesaria la existencia de un mecanismo de represión de la respuesta defensiva, que permita la colonización en las plantas susceptibles, relacionada con la inducción de algunos genes asociados al proceso simbiótico. Al respecto se han especulado tres posibilidades:

- ⇒ que los productos de estos genes, mediante la activación por algún compuesto del hongo, limiten directamente la expresión de los genes de defensa
- ⇒ que los productos de dichos genes induzcan en el hongo la síntesis de un supresor que bloquee la respuesta de defensa en planta
- ⇒ que distintas fitohormonas, cuyas concentraciones pueden verse alteradas en las raíces micorrizadas, sean las que actúen como señal en la respuesta de defensa (53).

De esta forma, el equilibrio entre los mecanismos de represión o inhibición de la respuesta defensiva y el control del desarrollo del microorganismo simbiote en la planta son la clave de la compatibilidad y funcionalidad de la asociación (54). *Genes relacionados con la organización y función de la interfase.* La interfase se forma en el área de contacto entre las superficies celulares de ambos simbioses, por lo que está compuesta por ambas membranas separadas por una región apoplástica (55).

La formación de este nuevo compartimento apoplástico involucra la síntesis *de novo* de las moléculas de la membrana y de la pared celular, dentro de las cuales se encuentran: α -manosa, β -1,3-glucanos, poligalacturonanos no esterificados, xiloglucanos, glicoproteínas ricas en hidroxiprolina y arabinogalactanos enlazados a proteínas (53, 56).

Los arbusculos constituyen el sitio donde se produce el intercambio de nutrientes entre el hongo y la planta, siendo las ATPasas H^+ membranales las enzimas que controlan, principalmente, el proceso de transporte iónico y molecular a nivel celular. Estudios realizados han revelado (57, 58) cambios en la distri-

bución y activación de ATPasas protónicas específicas en las membranas arbusculares, periarbuscular y periférica, típicas de la interfase mencionada.

Se conoce que en las células de las raíces no colonizadas, las ATPasas se encuentran distribuidas exclusivamente en la membrana, mientras que en las células micorrizadas se concentran en el plasmolema de la planta hospedera, que rodea el arbusculo. En este sentido, se aislaron genes considerados posibles candidatos que codifiquen para estas ATPasas protónicas (59).

INDUCCIÓN DE RESISTENCIA SISTÉMICA POR LOS HMA

La resistencia sistémica es aquella que se origina en zonas de la planta alejadas del sitio donde se produce la infección, la que puede ser inducida o adquirida. Se conoce como resistencia sistémica inducida (ISR) cuando agentes de biocontrol pueden proteger las plantas sistémicamente contra patógenos, previo a la manifestación de los síntomas causales (60). Mientras que la resistencia sistémica adquirida (SAR) resulta de la infección primaria y localizada del patógeno, la cual se distingue de otras respuestas de resistencia a enfermedades por el amplio espectro de protección patogénica y la expresión de un sistema específico de genes, varios de los cuales codifican para PR proteínas (61).

En la literatura está bien documentada la incidencia de los HMA en la reducción de enfermedades provocadas por patógenos radicales (62, 63). Se han propuesto diferentes hipótesis para explicar la bioprotección por estos hongos, particularmente (64), se ha sugerido que el bajo nivel de expresión de genes relacionados con la defensa, mantenido en la simbiosis micorrízica arbuscular, podría ser suficiente para que las respuestas primarias de defensa de la planta actúen eficientemente contra subsecuentes ataques patogénicos.

Para demostrar que en efecto los HMA son capaces de inducir resistencia sistémica, los experimentos llevados a cabo se han apoyado en el uso de sistemas compartimentados que permiten la separación física entre las raíces micorrizadas y las no micorrizadas. En este sentido, se demostró que aunque la colonización por *G. fasciculatum* reducía significativamente la infección con *Aphanomyces eutiches* en plantas de guisante (65) cuando los dos hongos estaban presentes en el mismo compartimento, y no cuando se inoculaba en partes diferentes del sistema radical, la capacidad de esporulación del hongo sí se afectó negativamente en ambos casos. Por tanto, propuso que la resistencia inducida frente a la infección por el patógeno era de naturaleza sistémica pero de alcance limitado, quizás mediada por señales de difícil difusión, explicando así que no se manifestara en la mitad no micorrizada del sistema radical.

Posteriormente, al estudiar en un sistema similar (66), el efecto protector de los HMA *G. mosseae* y *G. intraradices* en tomate infectado con *Phytophthora parasitica*, se encontró una respuesta positiva en la interacción con *G. mosseae*, no así para *G. intraradices*, y se concluyó que esta bioprotección fue el resultado de una combinación de mecanismos localizados y sistémicos. Estos resultados fueron confirmados (67), los que demostraron la existencia de efectos localizados al observar resistencia en las células corticales con arbusculos, asociada a la acumulación de compuestos fenólicos y al reforzamiento de la pared celular con calosa, y de efectos sistémicos que se manifestaron en las partes de la raíz no micorrizadas, caracterizados por la formación de engrosamientos en la pared celular del hospedante, que contenían pectinas no esterificadas y acumulación de PR-1, además de la formación de papilas ricas en calosa, todo lo cual previene la proliferación de *Phytophthora* en las células de la raíz.

En este sentido, se ha sugerido el papel de las fitohormonas como componentes reguladores, pues se comprobó la capacidad de muchas ectomicorrizas (EM) y MA de sintetizar hormonas de plantas (50). De forma similar a como ocurre en las interacciones planta-patógenos, estas hormonas pueden participar como señales, ya sean primarias o como mensajeros secundarios, en la inducción de resistencia sistémica, teniendo al parecer, un rol relevante el etileno, el ácido jasmónico y el ácido salicílico, a los que recientemente se les ha unido la hormona polipeptídica denominada sistemina (61, 68, 69).

Al respecto, se ha observado que la activación de quitinasa y β -1,3-glucanasa, así como la acumulación de ARNm son suprimidos en tejidos de tabaco, tratados con diferentes combinaciones de auxinas y citoquininas, siendo independiente de la concentración de etileno (51). Por otra parte, en caupí (cowpeas) se encontró que el número de arbusculos frecuentemente disminuye cuando se remueve el ápice de la planta hospedera, pero se incrementa cuando se aplica ácido indolacético (AIA) (70).

ESTUDIOS BIOQUÍMICOS CON MICORRIZAS ARBUSCULARES

En los últimos años se han realizado investigaciones concernientes a los HMA basadas en el estudio del ADN, mediante las cuales se trata de dar respuesta a dos aspectos fundamentales: la primera relacionada con la filogenia y taxonomía de estos microorganismos, así como su identificación y monitoreo en el suelo, mientras que la segunda está más directamente asociada al desarrollo y funcionamiento de la simbiosis (71, 72, 73). Con estos mismos fines, se han puesto también en práctica técnicas inmunológicas (74).

Paralelamente a estos estudios se han realizado otros de carácter bioquímico, entre los que se desta-

ca la determinación cuantitativa y cualitativa de sistemas enzimáticos involucrados en los eventos que tienen lugar en los procesos de reconocimiento, establecimiento y funcionamiento de la simbiosis.

Las determinaciones cuantitativas consisten en la medición de la actividad enzimática, siendo numerosos los ejemplos que se conocen en plantas micorrizadas. Al respecto, podemos mencionar la inducción de la actividad malato deshidrogenasa en raíces de pepino inoculadas con *G. intraradices* (62, 75); se estudió el efecto de *G. fasciculatum* en plantas de cebolla sometidas a estrés hídrico, a través del comportamiento de las actividades nitrato reductasa y glutamina sintetasa. De igual forma, durante la interacción lechuga-*G. mosseae* se estudió la inducción de las actividades: pectin esterasa, endo y exopoligalacturonasa, así como pectato y pectin liasas (76, 77).

Por su parte, las determinaciones cualitativas se basan en el análisis de la expresión de isoenzimas, cuyo término fue dado (78) para definir las múltiples formas moleculares de una especie enzimática, codificadas por diferentes alelos del mismo locus, las cuales se distinguen por su especificidad hacia el sustrato, modo de acción, Km, peso molecular, punto isoeléctrico y condiciones de síntesis y activación (79).

Las isoenzimas se estudian a través de las técnicas electroforéticas, que nos permiten conocer su inducción diferencial y así poder caracterizar cada interacción planta - HMA, a nivel de especie, las cuales rigen las variaciones genéticas así como las similitudes y diferencias específicas de la simbiosis establecida. La información que ellas brindan sobre la evolución de la expresión de los genes así como la conexión entre estas y diversos caracteres fenotípicos, constituyen la base de todas las aplicaciones actuales o eventuales de estas en plantas superiores (80). El estudio de los patrones isoenzimáticos de raíces micorrizadas han demostrado la ex-

presión de nuevas isoenzimas o isoformas, las cuales se consideran específicas de la simbiosis, pues no se observaron en las raíces sin micorrizar. En este sentido, se ha informado la expresión de varias isoformas de quitinasa, quitosanasa y β -1,3-glucanasa en *Allium* y *Pisum* colonizados con diferentes especies de *Glomus* (81). Resultados similares fueron detectados en la interacción tomate-*G. mosseae* (44), donde además de quitinasas ácidas se encontraron isoformas con actividad quitosanasa y otras con actividad dual quitinasa/quitosanasa. Estos también detectaron la inducción de dos isoformas de β -1,3-glucanasa, una ácida y otra neutra, en raíces de tomate inoculadas con *G. mosseae* y *G. intraradices* (66). Asimismo, se ha informado la expresión de isoformas de peroxidasa ácida, específicas para la interacción simbiótica entre el tomate y especies de *Glomus* (82, 83).

Dadas las alteraciones metabólicas que ocurren en las raíces hospederas tras la colonización por un HMA, principalmente debido al control que ejercen estos hongos sobre la expresión génica, es lógico que la planta recurra a isoformas distintas, diferencialmente reguladas y con funciones probablemente complementarias, lo que justifica la amplia batería de isoenzimas que se inducen (44).

El estudio de las actividades enzimáticas, tanto cuantitativas como cualitativas, brinda una valiosa información acerca de estas alteraciones metabólicas, lo cual contribuye a esclarecer las bases funcionales que rigen la interacción planta-HMA, cuyo desconocimiento, en muchas ocasiones, limita el óptimo aprovechamiento de estos hongos como biofertilizantes y ha llevado al enmascaramiento de posibles resultados positivos. De ahí que se considere imprescindible la comprensión del diálogo fisiológico, bioquímico y genético que durante todo el proceso de micorrización mantienen ambos simbiosis.

REFERENCIAS

1. Frank, A. B. Ueber die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Baume durch unterirdische Pilze. *Berichte der Deutsch Botanische Gesellschaft*, 1885, vol. 3, p. 128-145.
2. Nageli, C. Pilze im Innern von Zellen. *Linnaea*. 1842, vol. 16, p. 278-285.
3. Koide, R. T. y Mosse, B. A history of research on arbuscular mycorrhizal. *Mycorrhiza*, 2004, vol. 14, p.145-163.
4. Read, D. J. Mycorrhiza-The state of the art. En: *Mycorrhiza 2nd*. (A. Varma y B. Hock, Eds.) Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 1999. p. 3-34.
5. Azcón-Aguilar, C. y Barea, J. M. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens- an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza*, 1996, vol. 6, p. 457-464.
6. Barea, J. M.; Azcón-Aguilar, C.; Ocampo, J. A. y Azcón R. Morfología, anatomía y citología de las micorrizas vesículo-arbusculares. En: *Fijación y Movilización Biológica de Nutrientes. II. Fijación de N y Micorrizas*. Madrid : CSIC, 1991. p. 149-173.
7. Harley, J. L. y Smith, S. E. *Mycorrhizal Symbiosis*. New York, Academic Press. 1983.
8. Schübler, A.; Schwarzott, D. y Christopher, W. A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. *Mycol. Res.*, 2001, vol. 105, no. 12, p. 1413-1421.
9. Redecker, D. Specific PCR primers to identify arbuscular mycorrhizal fungi within colonized roots. *Mycorrhiza*, 2000, vol. 10, p. 73-80.
10. Redecker, D.; Kodner, R. y Graham, L. E. Glomalean fungi from the Ordovician. *Science*, 2000, vol. 289, p. 1920-1921.
11. Redecker, D. Molecular identification and phylogeny of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 2002, vol. 244, p. 67-73.
12. Bago, B. y Becard, G. Bases of the obligate biotrophy of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhizal Technology in Agriculture*, 2002. 48 p.
13. Graham, J. H.; Duncan, L.W. y Eissenstat, D. M. Carbohydrate allocation patterns in citrus genotypes as affected by phosphorus nutrition, mycorrhizal colonization and mycorrhizal dependency. *New phytologist*, 1997, vol. 135, p. 335-343.
14. Vierheilig, H. y Piché, Y. Signaling in arbuscular mycorrhiza: facts and hypotheses. *Flavonoids in cell functions*. New York : Kluwer Academic, Plenum Publishers, 2002.
15. Harrison, M. J.; Liu, J.; Dewbre, G. R.; Blaylock, L. A. y Zhao, L. Toward an understanding of the development and functioning of an arbuscular mycorrhiza: molecular and genetic approaches. En: *Proceedings of the Third International Congress on Symbiosis*. (3: 2000 aug : Marburg), 2000. p. 84.
16. Franken, P. y Requena, N. Analysis of gene expression in arbuscular mycorrhizas: new approaches and challenges. *New Phytol.*, 2001, vol. 150, p. 517-523.
17. Gollote, A.; Brechenmacher, L.; Weidmann, S.; Franken, P. y Gianinazzi-Pearson, V. Plant genes involved in arbuscular mycorrhiza formation and functioning. *Mycorrhizal Technology in Agriculture*. 2002. 102 p.
18. INVAM. Disponible en: <http://invam.caf.wvu.edu.>
19. Podila, G. K. Signaling in mycorrhizal symbioses-elegant mutants lead the way. *New Phytologist*, 2002, vol. 154, p. 541-551.
20. Bécard, G.; Douds, D. D. y Pfeffer, P. Extensive *in vitro* hyphal growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in the presence of CO and flavonols. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1992, vol. 58, p. 821-825.
21. Vierheilig, H.; Bago, B.; Albrecht, C.; Poulin, M.J. y Piché, Y. Flavonoids and arbuscular-mycorrhizal fungi. En: *Flavonoids in the living system*. New York : Plenum Press, 1998. p. 9-33.
22. Bécard, G.; Taylor, L. P.; Douds, D. D.; Pfeffer, P. y Doner, I. W. Flavonoids are not necessary plant signal compounds in arbuscular mycorrhizal symbioses. *Mol. Plant Microbe Interact.* 1995, vol. 8, p. 252-258.
23. Guenoune, D.; Galili, S.; Phillips, D. A.; Volpin, H.; Chet, I.; Okon, Y. y Kapulnik, Y. The defense response elicited by the pathogen *Rhizoctonia solani* is suppressed by colonization of the AM-fungus *Glomus intraradices*. *Plant Science*, 2001, vol. 160, p. 925-932
24. Nagahashi, G. y Douds, D. D. Appressorium formation by AM fungi on isolated cell walls of carrot roots. *New Phytol.*, 1997, vol. 136, p. 299-304.
25. Benabdellah, K.; Azcón-Aguilar, C. y Ferrol, N. Alterations in the plasma membrane polypeptide pattern of tomato roots (*Lycopersicon esculentum*) during the development of arbuscular mycorrhiza. *J. of Exp. Botany*, 2000, vol. 51, no. 345, p. 747-754.
26. Dassi, B.; Samra, A.; Dumas-Gaudot, E. y Gianninazzi, S. Different polypeptides profiles from tomato roots following interactions with arbuscular mycorrhizal (*Glomus mosseae*) or pathogenic (*Phytophthora parasitica*) fungi. *Symbiosis*, 1999, vol. 26, p. 65-77.
27. Smith, F. A. y Smith, S. E. Structural diversity in (vesicular)-arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytol.*, 1997, vol. 137, p. 373-388.
28. Albrecht, C.; Geurts, R.; Lapeyrie, F. y Bisseling, T. Endo-mycorrhizae and rhizobial Nod factors both require *SYM 8* to induce the expression of the early nodulin genes *PsENOD 5* and *PsENOD 12A*. *Plant J.*, 1998, vol. 15, p. 605-614.
29. Dumas-Gaudot, E.; Gollote, A.; Cordier, C.; Gianinazzi, S. y Gianinazzi-Pearson, V. Modulation of host defence systems. En: *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Kluwer Academic Publishers. 2000, p. 173-200.
30. Harrier, L.A. Arbuscular Mycorrhizal (AM) Symbiosys: A Review of Signaling and Molecular Aspects of Root Colonization. *Botanical Journal of Scotland*, 2000, vol. 52, no. 2, p. 159-169.
31. Van Rhijn, P.; Fang, Y.; Galili, S.; Shaul, O.; Atzmon, N.; Wininger, S.; Esheld, Y.; Lum, M.; Li, V.T.; Fujishige, N.; Kapulnik, Y. y Hirsch, A. M. Expression of early nodulating genes in alfalfa mycorrhizae indicates that signal transduction pathways used in forming arbuscular mycorrhizae and *Rhizobium*-induced nodules may be conserved. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1997, vol. 94, p. 5467-5472.

32. Fröhling, M.; Roussel, H.; Gianinazzi-Pearson, V.; Puhler, A. y Perlick, A.M. The *Vicia faba* leghemoglobin gene *VfLb29* is induced in root nodules and in roots colonized by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatum*. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 1997, vol. 10, p. 124-131.
33. Balestrini, R.; Perotto, S.; Gasverde, E.; Dahiya, P.; Guldmann, L.; Brewin, N.J. y Bonfante, P. Transcription of a gene encoding a lectin like glycoprotein is induced in root cells harbouring arbuscular mycorrhizal fungi in *Pisum sativum*. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 1999, vol. 12, p. 785-791.
34. LaRue, T. A. y Weeden, N. F. The symbiosis genes of the host. En: *Proceedings of the 1st European Nitrogen Fixation Conference*. Official Press, Szeged, Hungary. 1994, p. 147-151.
35. Gollotte, A.; Gianinazzi-Pearson, V.; Giovannetti, M.; Sbrana, C.; Avio, L. y Gianinazzi, S. Cellular localization and cytochemical probing of resistance reactions to arbuscular mycorrhizal fungi in a 'locus a' mutant of *Pisum sativum* (L.). *Planta*, 1993, vol. 191, p. 112-122.
36. Gianinazzi-Pearson, V. Plant cell responses to arbuscular mycorrhizal fungi: getting to the roots of the symbiosis. *Plant Cell*, 1996, vol. 8, p. 1871-1883.
38. García-Garrido, J. M. y Ocampo, J. A. Regulation of the plant defence response in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Journal of Experimental Botany*, 2002, vol. 53, no. 373, p. 1377-1386.
38. Barker, S. J.; Tagu, D. y Delp, G. Regulation of root and fungal morphogenesis in mycorrhizal symbiosis. *Plant Physiol.*, 1998, vol. 116, p. 1201-1207.
39. Salzer, P. y Boller, T. Elicitor induced reactions in mycorrhizae and their supresion. En: *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. London : Kluwer Academic Publishers, 2000. p. 1-10.
40. Harrison, M. J. y Dixon, R. A. Isoflavonoid accumulation and expression of defense gene transcripts during the establishment of vesicular-arbuscular mycorrhizal associations in roots of *Medicago truncatula*. *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 1993, vol. 6, p. 643-654.
41. Volpin, H.; Elkind, Y.; Okon, Y. y Kapulnik, Y. A vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus (*Glomus intraradix*) induces a defense response in alfalfa roots. *Plant Physiol.*, 1994, vol. 104, p. 683-689.
42. Penninckx, I. Analysis of the signal transduction pathway leading to pathogen-induced activation of a plant defensin gene in *Arabidopsis thaliana*. [Tesis de doctorado]; Universidad Católica de Leuven, 1998.
43. Blee, K.A. y Anderson, A.J. Defense-related transcript accumulation in *Phaseolus vulgaris* L. colonized by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* Schenk and Smith. *Plant Physiol.*, 1996, vol. 110, p. 675-688.
44. Pozo, M. J. Inducción de enzimas hidrolíticas en raíces de tomate (*Lycopersicon esculentum*) como respuesta a la formación de MA y su implicación en el control biológico de *Phytophthora parasitica*. [Tesis de doctorado], Universidad de Granada, España, 1999.
45. David, R.; Itzhaki, H.; Ginzberg, I.; Galili, G. y Kapulnik, Y. Suppression of tobacco basic chitinase gene expression in response to colonization by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 1998, vol. 11, no. 6, p. 489-497.
46. Blee, K. A. y Anderson, A. J. Defense responses in plants to arbuscular mycorrhizal fungi. En: *Current Advances in Mycorrhizae Research*. Section II: Mycorrhizal fungi and plant defense. (G. K. Podila y D. D. Douds Jr. Eds.). APS Press, USA. 2000, p. 27-44.
47. Bonanomi, A.; Oetiker, J. H.; Guggenheim, R.; Boller, T.; Wiemken, A. y Vögeli-Lange, R. Arbuscular mycorrhiza in mini-mycorrhizotrons: first contact of *Medicago truncatula* roots with *Glomus intraradices* induces chalcone synthase. *New Phytologist*, 2001, vol. 150, p. 573-582.
48. Harrison, M. J. y Dixon, R. A. Spatial pattern of expression of flavonoid/ isoflavonoid pathway genes during the interaction between roots of *Medicago truncatula* and the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme*. *Plant J.*, 1994, vol. 6, p. 9-20.
49. Besner, Y. L. y Koide, R. T. Effect of mycorrhizal colonization and phosphorus on ethylene production by Snapdragon (*Antirrhinum majus* L) flowers. *Mycorrhiza*, 1999, vol. 9, p. 161-166.
50. Gongala, N. Regulation of mycorrhizal infection by hormonal factors produce by hosts and fungi. *Experientia*, 1991, vol. 47, p. 331-340.
51. Felix, G. y Meins, Jr.F. Ethylene regulation of β -1,3-glucanase in tobacco. *Planta*, 1987, vol. 172, p. 386-392.
52. Ludwig-Müller, J. Hormonal balance in plants during colonization by mycorrhizal fungi. En: *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Kluwer Academic Publishers. 2000, p. 263-285.
53. Gianinazzi-Pearson, V.; Dumas-Gaudot, E.; Gollotte, A.; Tahiri-Alaoui, A. y Gianinazzi, S. Cellular and molecular defense-related roots responses to invasion by arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 1996, vol. 133, p. 45-57.
54. Blilou, I. Aspectos moleculares de la respuesta defensiva de las plantas a la formación de la simbiosis arbuscular. [Tesis de grado] ; Universidad de Granada, 1998.
55. Bonfante-Fasolo, P. y Perotto, S. Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi when infecting host plants. *New Phytol.*, 1995, vol. 130, p. 3-21.
56. Balestrini, R.; Josá-Estanyol, M.; Puigdomànech, P. y Bonfante, P. Hydroxyproline-rich glycoprotein mRNA accumulation in maize root cells colonized by an arbuscular mycorrhizal fungus as revealed by *in situ* hybridization. *Protoplasma*, 1997, vol. 198, p. 36-42.
57. Gianinazzi-Pearson, V.; Arnould, C.; Oufattole, M.; Arango, M. y Gianinazzi, S. Differential activation of H⁺-ATPase genes by an arbuscular mycorrhizal fungus in root cells of transgenic tobacco. *Planta*, 2000, vol. 211, no. 5, p. 609-613.
58. Ferrol, N.; Barea, J. M. y Azcon-Aguilar, C. The plasma membrane H⁺[sup +]-ATPase gene family in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Current Genetics*, 2000, vol. 37, p. 112-118.

59. Murphy, P. J.; Langridge, P. y Smith, S. E. Cloning plant genes differentially expressed during colonisation of roots of *Hordeum vulgare* by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *New Phytologist*, 1997, vol. 135, p. 291-301.
60. Kjellbom, P.; Snogerup, L.; Stohr, C.; Reuzeau, C.; McCabe, P.F. y Pennell, R.I. Oxidative cross-linking of plasma membrane arabinogalactan proteins. *Plant J.*, 1997, vol. 12, p. 1189-1196.
61. Ruiz-Lozano, J. M.; Azcón, R. y Palma, J. M. Superoxide dismutase in arbuscular mycorrhizal *Lactuca sativa* plants subjected to drought stress. *New Phytol.*, 1996, vol. 134, p. 327-333.
62. Azcón, R. y Tobar, R.M. Activity of nitrate reductase and glutamine synthetase in shoot and root of mycorrhizal *Allium cepa*. Effect of drought stress. *Plant Science*, 1998, vol. 133, p. 1-8.
63. Cordier C. Bases cellulaires et moléculaires du contrôle biologique de *Phytophthora* sp. au niveau des racines par le champignon endomycorrhizogène *Glomus mosseae*. [Doctoral Thesis] ; Burgundy University, 1999. 88 p.
64. Frey, B.; Vilarino, A.; Schüepp, A. y Arines, J. Chitin and ergosterol content of extraradical and intraradical mycelium of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Soil Biol. Biochem.*, 1994, vol. 26, p. 711-717.
65. Rosendahl, S. Interactions between the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatum* and *Aphanomyces euteiches* root rot of pea. *Phytopathol. Z.*, 1985, vol. 114, p. 31-40.
66. Pozo, M. J.; Azcón-Aguilar, C.; Dumas-Gaudot, E. y Barea, J. M. β -1,3 glucanase activities in tomato roots inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi and/or *Phytophthora parasitica* and their possible involvement in bioprotection. *Plant Science*, 1999, vol. 141, p. 149-157.
67. Cordier, C.; Pozo, J. M.; Barea, J. M.; Gianinazzi, S. y Gianinazzi-Pearson, V. Cell defence responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora nicotianae* induced in tomato by an arbuscular mycorrhizal fungus. *Mol. Plant-Microbe Interac.*, 1998, vol.10, p. 1017-1028.
68. Cordier, C.; Trouvelot, A.; Gianinazzi, S. y Gianinazzi-Pearson, V. Arbuscular mycorrhiza technology applied to micropropagated *Prunus avium* and to protection against *Phytophthora cinnamomi*. *Agronomie*, 1996, vol. 16, p. 679-688.
69. Noval, B. M. de la. Influencia de la sistemina sobre la actividad β -1,3-glucanasa y quitinasa en plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) micorrizadas. [Tesis de Maestría], Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados (CINVESTAV-IPN), Unidad de Irapuato. México, 2000.
70. Gunze, C. M. B. y Henness, C. M. R. Effect of host-applied auxin on development of endomycorrhiza in cowpeas. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 1980, vol. 74, p. 247-251.
71. Clapp, J. P.; Helgason, T.; Daniell, T. y Young, J. P. W. Genetic studies of the structure and diversity of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Mycorrhizal ecology*, 2002, vol. 157, p. 201-224.
72. Ferrol, N.; Gianinazzi, S. y Gianinazzi-Pearson, V. Arbuscular mycorrhiza induced ATPases and membrane nutrient transport mechanisms. *Mycorrhizal Technology in Agriculture, from genes to bioproducts*, 2002. p. 113-122.
73. Kowalchuk, G. A.; De Souza, F. A. y Van Veen, J. A. Community analysis of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Ammophila arenaria* in Dutch coastal sand dunes. *Molecular Ecology*, 2002, vol. 571, p. 581.
74. Kozlova, N. V.; Strunnikova, O. K.; Labutova, N. M. y Muromtsev, G. S. Production and specificity of polyclonal antibodies against soluble proteins from the arbuscular mycorrhizal fungus. *Mycorrhiza*, 2001, vol. 10, p. 301-305.
75. Thingstrup, I. y Rosendal, S. Quantification of fungal activity in arbuscular mycorrhizal symbiosis by polyacrylamide gel electrophoresis and densitometry of malate dehydrogenase. *Soil Biol. Biochem.*, 1994, vol. 26, no. 11, p. 1483-1489.
76. García-Romera, I.; García-Garrido, J.M. y Ocampo, J.A. Pectolytic enzymes in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus-mosseae*. *FEMS microbiology letters*, 1991, vol. 78, no. 2-3, p. 343-346.
77. García-Garrido, J. M.; Tribak, M.; Rejón-Palomares, A.; Ocampo, J. A. y García-Romera, I. Hydrolytic enzymes and ability of arbuscular mycorrhizal fungi to colonize roots. *Journal of Experimental Botany*, 2000, vol. 51, p. 1443-1448.
78. Market, C. L. y Moller, F. Multiple form of enzyme. Tissue ontogenetic and species specific patterns. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1959, vol. 5, p. 753-763.
79. Vázquez-Garcidueñas, S.; Leal-Morales, C. y Herrera-Estrella, A. Analysis of β -1,3-glucanolytic system of biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998, vol. 64, no. 4, p. 1442-1446.
80. Iglesias, L. Utilización de marcadores bioquímicos y moleculares en el mejoramiento genético de la papa. *Cultivos Tropicales*, 1994, vol. 15, no. 2, p. 108-121.
81. Dumas-Gaudot, E.; Grenler, J.; Furlan, V. y Asselin, A. Chitinase, chitosanase and β -1,3 glucanase activities in *Allium* and *Pisum* roots colonized by *Glomus* species. *Plant Sci.*, 1992, vol. 84, p.17-24.
82. Hernández, M. A. Dinámica de inducción de cinco sistemas enzimáticos, relaciones con los mecanismos de defensa en planta, en la simbiosis tomate-hongos formadores de micorrizas arbusculares. [Tesis de grado]; Universidad de la Habana. INCA. 2001.
83. Rodríguez, Y.; Pérez, E.; Solórzano, E.; Meneses, A. y Fernández, F. Peroxidase and polyphenoloxidase activities in tomato roots inoculated with *Glomus clarum* or *Glomus fasciculatum*. *Cultivos Tropicales*, 2001 vol. 22. no. 1, p. 11-16.

Recibido: 22 de enero de 2004

Aceptado: 30 de septiembre de 2004