

EFECTO DE LA CONTAMINACION CON HIDROCARBUROS SOBRE HONGOS FORMADORES DE MICORRIZAS VESICULO-ARBUSCULARES (MVA)

Effect of hydrocarbon pollution on vesicular arbuscular mycorrhizal fungi (VAM).

Marta N. Cabello

Instituto Spegazzini, 53 # 477. 1900 La Plata
Argentina

Palabras clave: Hongos MVA, *Glomus mosseae*, *G. fasciculatum*, contaminación, hidrocarburos.
Key word: Fungi MVA, *Glomus mosseae*, *G. fasciculatum*, pollution, hydrocarbons.

RESUMEN

Se estudió el efecto de hidrocarburos sobre hongos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares (MVA) en condiciones de campo y de laboratorio. Plantas de alfalfa (*Medicago sativa*) con y sin inoculación del endófito *Glomus mosseae*, fueron transplantadas en el campo en parcelas contaminadas con hidrocarburos y en parcelas testigo no contaminadas. El mismo ensayo se realizó en condiciones de laboratorio en macetas, para lo cual se probaron 2 endófitos: *G. mosseae* y *G. fasciculatum*.

La contaminación con hidrocarburo, tanto en condiciones de campo como de laboratorio, redujo la colonización en las raíces. En el campo, en el suelo contaminado, los niveles más altos de colonización se produjeron cuando las plantas se inocularon previamente y en laboratorio, cuando el hongo MVA colonizó la raíz antes del contacto con el hidrocarburo. *G. fasciculatum* mostró ser más eficiente que *G. mosseae* en el crecimiento de plantas de alfalfa.

INTRODUCCION

El papel de los hongos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares (MVA) en la evolución de las plantas en la corteza terrestre, ha sido y sigue siendo sumamente decisivo. Las plantas micorrizadas poseen ventajas con respecto a las que no lo son en situaciones ecológicas marginales como ser: recuperación de suelos erosionados, revegetación de suelos provenientes de excavaciones (minas, canteras, etc) y crecimiento de plantas en situaciones de estrés. Los suelos que se uti-

SUMMARY

The effect of hydrocarbon pollution on VAM fungi in both, field and laboratory conditions, was studied. Alfalfa (*Medicago sativa*) inoculated and non-inoculated with *G. mosseae* were transplanted to hydrocarbon polluted and non-polluted soils and inoculated and non inoculated with *G. mosseae* and *G. fasciculatum*, were transplanted to polluted and non-polluted substrate in pots.

The hydrocarbon decreased the root colonization in both situations: field and laboratory. Higher levels of field colonization were produced when plants were previously inoculated and in laboratory conditions when the fungi colonized the root before plants were transplanted to the polluted substrate. *G. fasciculatum* was more efficient in improving growth plant than *G. mosseae*.

lizan para depositar residuos de hidrocarburos para su posterior biodegradación mediante las conocidas técnicas del "landfarming" (Raymond et al., 1978; Meyers & Huddleston, 1980), son ecológicamente marginales, en los cuales las plantas crecen en situaciones de estrés.

Es conocido que la contaminación con hidrocarburos ejerce un efecto negativo sobre las comunidades de plantas y el modo por el cual el petróleo actúa sobre éstas es complejo, involucrando toxicidad y efectos nocivos indirectos, mediados por las interacciones del petróleo con los componentes abióticos y microbianos del suelo

(Bossert & Bartha, 1984). A pesar de ello, estudios recientes han puesto de manifiesto que la vegetación posee un papel preponderante en la bioregeneración de suelos contaminados con químicos orgánicos, los cuales son tóxicos (Schonoor & Licht, 1991; Davis et al., 1993). La mayoría de las plantas son hospedadoras de hongos formadores de MVA por lo cual deben considerarse como un importante recurso microbiológico en los procesos de biodegradación de contaminantes.

La habilidad de un ambiente para recuperar la condición previa a la contaminación, dependerá en parte del éxito en el restablecimiento de la relación simbiótica hongo MVA-planta. Este éxito y la proporción del restablecimiento, estará determinado por el efecto de la práctica de recuperación sobre la composición de las especies fúngicas y densidad del inóculo en los sitios a recuperar. Los propágulos de hongos formadores de MVA, pueden constituir una importante fuente de "infección" en sitios alterados, donde la densidad de plantas en el corto plazo es generalmente menor en comparación con los ambientes no contaminados.

Los objetivos de este trabajo son: estudiar el efecto de los hidrocarburos (barros de piletas API) sobre la colonización de MVA en plantas en condiciones de campo y de laboratorio; evaluar el efecto de hongos biodegradadores adicionados al sustrato de las macetas y estudiar la eficiencia de *Glomus fasciculatum* y *G. mosseae* en el mejoramiento del desarrollo de plantas inoculadas con ellos, medida como producción de materia seca.

MATERIALES Y METODOS

El experimento donde se evaluó el efecto de hidrocarburos sobre hongos MVA en el campo, se realizó en la Estación Experimental de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata y en ensayos en macetas, en el laboratorio del Instituto Spegazzini.

La preparación de las parcelas fue descrita en Cabello & Arambarri, (1993).

I.- Efecto de los hidrocarburos sobre los hongos formadores de MVA en condiciones de campo.

Preparación del material vegetal en el laboratorio. Como planta hospedadora se utilizó alfalfa (*Medicago sativa*) inoculada y no inoculada con un aislamiento de (*Glomus mosseae*). Se utilizaron macetas de 1 lt de capacidad y como sustrato de crecimiento una mezcla de arcilla expandida:vermiculita (1:1 V/V), esterilizada en autoclave. Para la preparación de las plantas inoculadas se adicionó al sustrato estéril 15 g/maceta de suelo rizosférico de platas de alfalfa y sorgo, las que habían crecido previamente en macetas con un aisla-

miento de (*Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.). Gerd. y Trappe), el cual contenía conidios, micelio y fragmentos de raíces colonizadas. Un filtrado de suelo del inóculo sin hongos MVA, fue adicionado a las plantas no inoculadas para restablecer la microbiota.

Las plantas crecieron a temperatura ambiente con luz natural. Tres veces por semana se les suministraba la siguiente solución nutritiva: (MgSO₄·7H₂O - 0,75mM; NaNO₃-1mM; K₂SO₄-1mM; CaCl₂·2H₂O-2mM; Na₂HPO₄·12H₂O -3,2uM; FeNa-EDTA-0,025mM; MnSO₄·4H₂O -5⁻³mM; CuSO₄·5H₂O -2,5⁻⁴mM; ZnSO₄·7H₂O -5⁻⁴mM; H₃BO₃ - 0,025mM y NaMoO₄·2H₂O -1⁻⁴mM).

A los 6 meses posteriores a la adición del hidrocarburo al suelo y para cuando las plantas tuvieran 3 meses de crecimiento en macetas, fueron llevadas al campo de la Estación Experimental y transplantadas en las parcelas tratadas con barros con hidrocarburos (pH 7) y en la parcela testigo (pH 5,8)(Mayo, 1992).

A partir de los 2 meses del trasplante (Junio, 1992), se tomaron muestras de las inoculadas y no inoculadas. Un gramo de raíces fue clarificado y teñido siguiendo la técnica de Phillips & Hayman (1970). El porcentaje de longitud de la raíz colonizada y la proporción de las diferentes estructuras fúngicas: unidades de infección por cm de raíz, porcentaje de arbusculos y número de vesículas, se determinaron mediante el método descrito por Ocampo et al., (1980)

II.- Efecto en condiciones de laboratorio.

Para la preparación de este experimento se efectuaron los pasos que se indicaron en el punto I, para la preparación del material vegetal. Además de *Glomus mosseae* se utilizó también como inóculo a *G. fasciculatum* (Taxter) Gerd. y Trappe emend. Walker y Koske.

Para el tratamiento con hidrocarburos se mezcló al sustrato estéril (arcilla expandida:vermiculita 1:1 V-V, pH 6,5), barro de fondo de piletas API de IPAKO S.A. (pH 10,41), a razón de 50 ml/maceta. En la mitad de los tratamientos (tanto del sustrato tratado como del testigo) se agregó a las macetas una suspensión de conidios y micelio de hongos saprotrófos, con comprobada capacidad degradativa (Cazau et al., 1992) tales como: *Alternaria alternata* (Fr:Fr) Keisler (LPS cultivo N° 111); *Cunninghamella elegans* Lendner (LPS cultivo N° 128) y *Phanerochaete chrysosporium* Burdsall (LPS cultivo N° 211), a razón de 5 ml/maceta, para ayudar a la descomposición del hidrocarburo y evaluar este efecto vs. las macetas no tratadas.

Los tratamientos testigos fueron los siguientes:
T1= alfalfa no inoculada con hongos MVA sin hongos descomponedores.
T2= alfalfa no inoculada con hongos MVA con hongos descomponedores.

T3= alfalfa inoculada con *G. mosseae* sin hongos descomponedores.

T4= alfalfa inoculada con *G. mosseae* con hongos descomponedores.

T5= alfalfa inoculada con *G. fasciculatum* sin hongos descomponedores.

T6= alfalfa inoculada con *G. fasciculatum* con hongos descomponedores.

Los tratamientos con hidrocarburos fueron los siguientes:

HC1= alfalfa no inoculada con hongos MVA sin hongos descomponedores.

HC2= alfalfa no inoculada con hongos MVA con hongos descomponedores.

HC3= alfalfa inoculada con *G. mosseae* sin hongos descomponedores.

HC4= alfalfa inoculada con *G. mosseae* con hongos descomponedores.

HC5= alfalfa inoculada con *G. fasciculatum* sin hongos

descomponedores.

HC6= alfalfa inoculada con *G. fasciculatum* con hongos descomponedores.

HC7= alfalfa inoculada con *G. mosseae* con hongos descomponedores.

HC8= alfalfa inoculada con *G. fasciculatum* con hongos descomponedores.

Para los tratamientos HC7 y HC8, se utilizó una estrategia diferente. Las macetas fueron llenadas con el sustrato tratado con hidrocarburo y se le adicionó la suspensión de hongos descomponedores, pero permanecieron sin las plantas durante 6 semanas. Se les suministró solución nutritiva y se mantuvo húmedo el sustrato. Transcurrido este lapso de tiempo se transplantaron alfalfas inoculadas con *G. mosseae* y *G. fasciculatum*, las cuales habían crecido en condiciones normales durante 6 semanas, para permitir una buena colonización de sus raíces con los hongos MVA probados.

La luz natural fue suplementada de modo que el

Tabla 1
Porcentaje de raíces colonizadas, arbúsculos, número de vesículas y unidades de infección en plantas de alfalfa creciendo en condiciones de campo, en parcelas testigos y tratadas con barros(hidrocarburos).
Los datos son promedios de 3 repeticiones.

	PARCELA TESTIGO							
	Alfalfa no inoculada				Alfalfa Inoculada			
	% col	% arb	n° ves	u.i.	% col	% arb	n° ves	u.i.
Junio	38.78	6.90	0.38	0.77	50.00	10.00	0.30	0.60
Julio	40.75	10.00	0.40	0.80	52.00	9.08	0.39	0.80
Agosto	50.00	15.00	0.30	0.70	52.00	14.48	0.48	0.19
Septiembre	50.05	50.00	2.16	1.50	57.00	49.50	1.05	1.15
Octubre	51.03	20.00	6.50	1.30	60.00	25.30	7.02	1.20
Noviembre	63.08	7.92	8.78	1.12	75.00	10.32	9.72	1.46
Diciembre	72.90	1.20	10.00	0.70	78.00	3.05	9.70	1.00

	PARCELA CONTAMINADA							
	Alfalfa no inoculada				Alfalfa Inoculada			
	% col	% arb	n° ves	u.i.	% col	% arb	n° ves	u.i.
Junio	5.05	0.00	1.00	0.20	41.24	18.57	2.28	0.66
Julio	6.07	0.00	3.00	0.20	46.95	18.33	3.16	0.50
Agosto	8.00	0.00	3.00	0.20	57.26	15.58	12.03	1.20
Septiembre	10.15	0.50	5.00	0.10	63.74	13.59	12.01	1.20
Octubre	12.03	0.70	5.00	0.10	67.80	20.02	16.05	1.40
Noviembre	14.79	1.00	4.00	0.08	69.20	9.01	17.00	1.30
Diciembre	15.05	0.60	0.00	0.09	70.30	0.00	18.00	1.00

ciclo luz/oscuridad fue de 16/8hs y la temperatura se mantuvo a $25\pm 5^{\circ}\text{C}$. Las plantas fueron regadas utilizando el sistema de capilaridad y se les adicionó solución nutritiva, a razón de 10 ml por maceta, 3 veces por semana. A las 12 semanas de crecimiento las plantas fueron cosechadas y se evaluaron los siguientes parámetros: peso húmedo y seco de la región aérea, longitud de tallo y raíz; número de nudos, ramas y hojas del tallo; peso húmedo y seco de la raíz, longitud de raíz colonizada; porcentaje de arbusculos, número de vesículas y unidades de infección por cm de raíz.

Los resultados fueron evaluados estadísticamente mediante el test de rango múltiple de Duncan.

RESULTADOS

I. Efecto de los hidrocarburos sobre hongos formadores de MVA en condiciones de campo.

La Tabla 1, muestra los resultados obtenidos de los trasposos de alfalfa inoculada y no inoculada en las parcelas tratadas con hidrocarburo y en la parcela testigo. Observamos que a los 2 meses posteriores al trasposo a las parcelas (desde Junio, 1992), hubo colonización en las plantas en la parcela testigo, tanto en las plantas inoculadas como en las no inoculadas, siendo la colonización en este último caso efectuada por endófitos MVA nativos del suelo, si bien la proporción fue mayor en las previamente inoculadas. El porcentaje de arbusculos aumentó desde Junio hasta Septiembre y luego decreció en las plantas cosechadas hasta Diciembre. El número de

vesículas aumentó hasta Diciembre y el número de puntos de entrada por cm de raíz se mantuvo en niveles bajos y su número más alto se observó en el período Septiembre- Noviembre.

Cuando analizamos la colonización en las plantas transplantadas en las parcelas contaminadas con hidrocarburos, observamos que las no inoculadas mostraron bajos niveles de colonización. El porcentaje de arbusculos, número de vesículas y unidades de infección por cm de raíz fueron también bajos. En cambio las plantas inoculadas y transplantadas en el suelo contaminado, mostraron valores altos de infección, los cuales fueron cercanos a los encontrados en la parcela testigo.

II. Efecto de los hidrocarburos en condiciones de laboratorio.

La Tabla 2, muestra los valores de los parámetros evaluados de plantas que crecieron en sustratos tratados con hidrocarburos vs. los no tratados (testigos). Estos valores muestran diferencias significativas al 1% ($P=0,01$), entre los tratamientos de sustratos contaminados y los no contaminados. Los tratamientos HC7 y HC8, muestran diferencias significativas con los restantes tratamientos (HC1 al HC6) en la producción tanto de biomasa aérea (peso seco y húmedo de tallo) como de raíz (a excepción de HC7 en producción de materia seca).

Al evaluar la colonización de las raíces, observamos que las plantas no inoculadas tanto en el sustrato tratado con hidrocarburos como en los no tratados, no hubo colonización. Los tratamientos HC3, HC4, HC5 y HC6,

Tabla 2.- Influencia de la contaminación con hidrocarburos sobre, crecimiento, biomasa y calidad de colonización de MVA en alfalfa en condiciones de laboratorio. Los valores son promedio de 10 repeticiones; * promedio de 5 repeticiones. Los valores seguidos por la misma letra no son significativamente diferentes (Test de Duncan)

TRATAMIENTO	TALLO						RAIZ						
	P.H.	P.S.	Long.	N° nudos	N° ramas	N° Hojas	P.H.	P.S.*	Long.	% col.	% arb.	N° res.	N° U.I.
	(g)	(g)	(cm)				(g)	(g)	(cm)				
HC1	0.109 a	0.025 a	5.16 a	3 a	1 a	7 a	0.090 a	0.026 a	13.66 b				
HC2	0.041 a	0.007 a	2.8 a	1 a	1 a	4 a	0.06 a	0.01 a	10.25 a				
HC3	0.139 a	0.029 a	4.5 a	4 a	1 a	6 a	0.10 a	0.04 a	12.20 a				
HC4	0.133 a	0.026 a	5.8 a	4 a	1 a	7 a	0.113 a	0.035 a	10.2 a				
HC5	0.154 a	0.031 a	6.41 a	5 a	1 a	7 a	0.16 a	0.018 a	13.41 a				
HC6	0.133 a	0.028 a	6.05 a	5 a	1 a	7 a	0.161 a	0.02 a	10.00 a				
HC6	0.34 b	0.06 b	10.5 b	8.87 b	1 a	11 a	0.385 b	0.03 a	19.12 b	47.18 b	36.48 c	89 b	2 b
HC7	0.62 c	0.12 c	15.54 b	11.54 b	1 a	26 b	1.07 c	0.17 b	26.04 c	52.02 b	30.10 c	107 c	3 c
T1	2.23 d	0.49 d	28.4 c	11 b	2 b	36 c	2.20 d	0.30 c	26.20 c				
T2	2.56 d	0.55 d	29 c	10 b	2 b	38 c	2.31 d	0.34 c	28.07 c				
T3	2.27 d	0.49 d	33.2 d	13 c	2 b	51 d	2.1 d	0.57 d	22.34 b	50.97 b	20.59 a	56 a	3 c
T4	2.26 d	0.464 d	31.75 d	14 c	3 c	53 d	1.847 d	0.58 d	23.25 c	37.31 a	24.22 b	43 a	3 c
T5	2.34 d	0.52 d	29.05 c	11 b	2 b	50 d	2.84 d	0.79 d	25.40 c	30.97 a	18.37 a	94 c	1 a
T6	3.51 d	0.73 d	37 d	14 c	2 b	54 d	2.96 d	1.11 d	24.85 c	31.59 a	15.72 a	79 b	1 a

P.H.=Peso húmedo; P.S.= Peso seco; U.I.= unidades de infección.

donde el inóculo se adicionó al sustrato contaminado con los barros, tampoco observamos colonización.

El porcentaje de colonización, porcentaje de colonización arbuscular, número de vesículas y unidades de infección fue más alto en los tratamientos del sustrato contaminado.

La adición de hongos saprófitos descomponedores al sustrato no ejerció acción ni positiva ni negativa sobre ninguno de los tratamientos, tanto en el testigo como en los contaminados.

Con el propósito de evaluar la respuesta de las plantas a la inoculación con hongos MVA y la respuesta a los diferentes tipos de inóculo se utilizó el siguiente índice (Sieverding, 1991):

$$R = \frac{\text{P.S. plantas inoculadas} - \text{P.S. plantas no inoculadas}}{\text{P.S. plantas no inoculadas}} \times 100$$

P.S. = peso seco

Respuesta a la inoculación MVA

Plantas inoculadas con:	Sust. contam.	Sust. testigo
<i>Glomus mosseae</i>	HC2/HC7= 757,14%	T2/T4= -15%
<i>G. fasciculatum</i>	HC2/HC8=1.614%	T2/T6=33,7%
<i>G. mosseae/</i> <i>G. fasciculatum</i>	HC7/HC8=100%	T4/T6=57,3%

La respuesta a la inoculación MVA fue muy grande en el caso del suelo tratado con hidrocarburo, al cual se le transplantaron alfalfas con 6 semanas de inoculación previa con *G. mosseae* (757,14%) y *G. fasciculatum* (1.614%).

Cuando comparamos las dos especies MVA inoculadas, observamos que la más efectiva para el crecimiento de alfalfa en sustrato contaminado fue *G. fasciculatum* (100%). Este inóculo duplicó la producción de materia seca en el tallo de las plantas con las cuales se asoció, en relación a *G. mosseae*. Igualmente *G. fasciculatum*, fue más eficiente en el tratamiento testigo (57,32%).

Si evaluamos la respuesta de crecimiento usando como parámetro la adición de hidrocarburo al sustrato de las plantas, observamos que para las no inoculadas con MVA, fue de -99%, para plantas inoculadas con *G. mosseae* de -87% y para plantas inoculadas con *G. fasciculatum* de -84%. Estos valores negativos son muy altos y demuestran que el hidrocarburo fue perjudicial para la producción de materia seca de las plantas y en el caso de las plantas no inoculadas fue la situación más desventajosa en todos los tratamientos.

La Figura 1, muestra el efecto de la contaminación

con hidrocarburos sobre el crecimiento de la alfalfa en los tratamientos donde se usó a *G. mosseae* como inóculo. Las macetas 1 (HC1) y 5 (HC3) no poseían inóculo (el que se puso en la Nº 5, murió por el hidrocarburo antes de que pudiera colonizar la raíz).

La Fig 2, muestra el efecto del hidrocarburo cuando se usó *G. fasciculatum* como inóculo.

La Fig 3, muestra el desarrollo de plantas inoculadas con *G. mosseae* (HC7, maceta 6) y *G. fasciculatum* (HC8, maceta 3).

Podemos observar el mayor vigor de la planta inoculada con *G. fasciculatum*, lo cual se puede correlacionar con los datos que se muestran en la Tabla 2.

DISCUSION

Muchos autores han denunciado la disminución de la biomasa fúngica micorrízica (Blaschke, 1985) y los cambios morfológicos y anatómicos (Kottke et al., 1986), en conexión a diversos tipos de contaminación en áreas boscosas.

Zak (1981), encontró, en suelos arenosos con restos de petróleo y en suelos degradados por la actividad minera, niveles bajos y muy esporádicos de colonización de la micobiota en plantas que crecían en ellos; lo mismo sucedió en nuestro ensayo a campo en el cual el establecimiento de la colonización fue muy bajo (5% a los 2 meses y 15% a los 9).

El efecto nocivo de los barros con hidrocarburos sobre el inóculo MVA, cuando éstos fueron agregados a las macetas pudo deberse al elevado pH de los mismos (Morelli et al., 1995). Se sabe que los hongos MVA toleran rangos de pH entre 6 a 8 (Daniels & Trappe, 1980) o bien de 4 a 5 (Hepper, 1984). Como la preparación de las parcelas de campo, se realizó con 6 meses de anticipación al traspaso, los endófitos nativos pudieron crecer cuando el pH se equilibró en la solución del suelo.

Se han observado niveles más altos de micorrización cuando la contaminación databa de varios años en el suelo (Cabello, en preparación), lo que sugiere la selección de estos hongos adaptados a la formación de MVA en él, desarrollando niveles de tolerancia mayores a la contaminación que aquellos que se producen cuando el contaminante es puntualmente adicionado al suelo.

Sin embargo son necesarios mayores estudios en estos geohongos en estos tipos de contaminación, para determinar sus límites de tolerancia y el efecto del agregado de fertilizantes al suelo.

Cabe recordar que no existe paralelismo en cuanto al grado de infectividad de hongos MVA y la efectividad de la micorriza formada y que, precisamente esto se manifiesta, especialmente en el caso de hongos adaptados a sobrevivir y colonizar plantas que crecen en suelos sin condiciones adecuadas para que se formen estas asociaciones hongo/planta.

CONCLUSIONES

1.- El hidrocarburo aplicado al suelo reduce la cantidad de propágulos capaces de iniciar la colonización. Mezclando al sustrato y el inóculo MVA en las macetas, se inhibe completamente el desarrollo de la colonización de estas últimas.

2.- La recuperación de los niveles naturales de inóculo en el suelo contaminado en condiciones de campo es muy lenta y proviene de las zonas vecinas a las parcelas tratadas.

3.- Las MVA sobreviven a la contaminación con hidrocarburos cuando están colonizando las raíces de las plantas hospedadoras. Allí pueden continuar su desarrollo y no son afectadas por el contaminante propiciando el crecimiento vegetal y aumentando la producción de biomasa.

4.- Las plantas previamente inoculadas soportan mejor la situación de estrés provocada por la contaminación, que las no inoculadas. Sin embargo la producción de biomasa de estas plantas es inferior a las de las plantas que crecen en condiciones normales sin contaminación.

5.- La adición de hongos biodegradadores al sustrato de crecimiento, no afecta el desarrollo de las plantas ni altera la colonización por endófitos formadores de MVA.

6.- *Glomus fasciculatum* es más eficiente que *G. mosseae*, en relación al crecimiento de la alfalfa en sustratos contaminados con hidrocarburos y en condiciones normales de desarrollo.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento a las autoridades de la Estación Experimental por facilitarme los terrenos y la mano de obra necesaria para la realización de los experimentos; a la Dra. A. Arambarri por su apoyo en la realización del trabajo; al Sr. H. Spinedi por las fotografías y al Sr. J. Chayle por la confección de las tablas.

REFERENCIAS

- Blaschke, H.** (1985). Wurzelschaden und Waldsterben: zur Bestimmung morphometrischer kenngrößen von Feinwurzeln system mit dem IBAS-erste Ergebnisse. Forstwissch. Cbl. 104: 199-205
- Bossert, I. & Bartha, R.** (1984). The fate of petroleum in soil ecosystems In: Petroleum microbiology Ed. R.M. Atlas: 43
- Cabello, M.N. & Arambarri, A.M.** (1993). Efecto de la contaminación con hidrocarburos sobre geohongos saprótrofos. Boletín Micológico 8: 55-60
- Cazau, M.C.; Maselli, G.; Arambarri, A.M.** (1992). Utilización de diferentes especies de hongos como biodegradadoras de hidrocarburos. I. Ensayo preliminar. Boletín Micológico 7: 79-83
- Daniels, B.A. & Trappe, J.M.** (1980). Factores affecting spore germination of the vesicular-arbuscular fungus *Glomus epigaeus*. Mycologia 72: 457-471
- Davis, L.C.; Erickson, L.E.; Lee, E.; Shimp, J.F.; Tracy, J.C.** (1993). Modeling the effects of plants on the bioremediation of contaminated soil and ground water. Environ. Prog. 12: 67-75
- Hepper, C.M.** (1984). Regulation of spore germination of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Acaulospora laevis* by soil pH. Trans. Brit. Mycol. Soc. 83: 154-156
- Kottke, I.; Rapp, C.; Oberwinkler, F.** (1986). Meristem und differenzierung in Wurzelspitzen und Mycorrhizen. Eur. J. For. Path. 16: 159-171
- Meyer, J.D. & Huddleston, R.L.** (1980). Landfarming: an option for solid waste disposal. RCRA Techniques for compliance conference sponsored by Chemical Engineering and Mine regulation & productivity Report, Houston June 3-4
- Morelli, I.S.; Vecchioli, G.I.; Del Panno, M.T.; Garre, M.I.; Costanza, O.R.; Paineira, M.T.** (1995). Assessment of the toxic potential of hydrocarbon containing sludges. Environm. Pollution 89: 131-135
- Ocampo, J.A.; Martin, J.; Hayman, D.S.** (1980). Influence of plant interactions on vesicular arbuscular mycorrhizal infection. I. - Host and non host plants growth together. The New Phytopatol. 84:27-35
- Phillips, J.M. & Hayman, D.S.** (1970). Improved procediures for clearing roots and staining parasitic and VA mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Br. Mycol. Soc.55: 158-161
- Raymond, R.L.; Jamison, V.W.; Hudson, J.D.** (1978). Field application of sub-surface biodegradation of gasoline in a sand formation. API Publication N° 4430, American Petroleum Institute, Washington DC
- Schndoor, J.L. & Licht, L.A.** (1991). Vegetative buffers for agroecosystems improvement, hazardous waste remediation, and biomass production. Conference on hazardous waste research, Kansas State University Manhattan, KS
- Sieverding, E.** (1991). Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Schriftenreihe der GTZ, N° 224
- Zak, J.C.** (1981). Saprophytic and symbiotic mycofloras of grass roots in ammended mine spoils. Ph.D. Thesis. Universidad de Calgary, Alberta, Canada

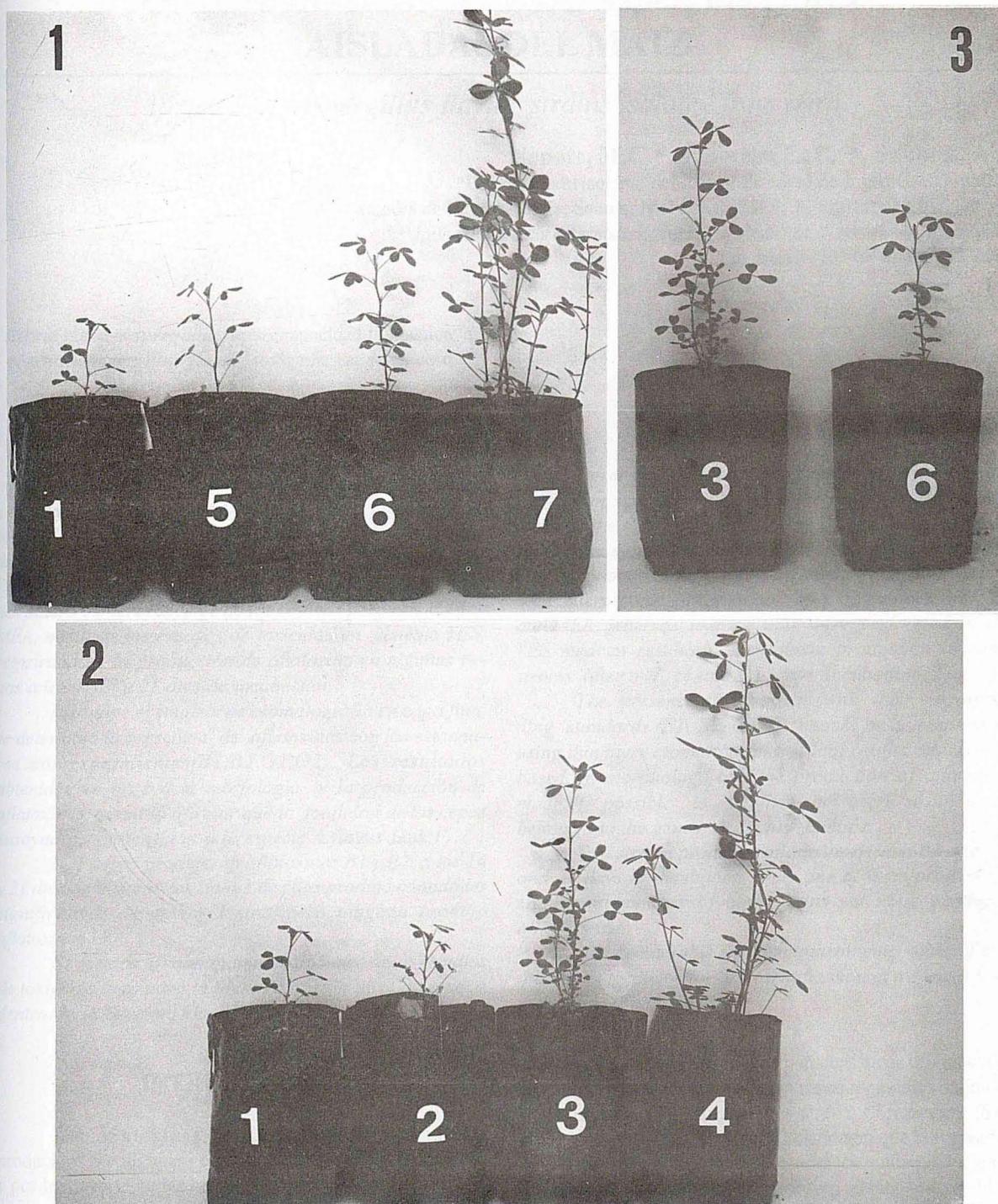


Figura 1.- Efecto del hidrocarburo sobre el crecimiento de alfalfa inoculada y no inoculada con *Glomus mosseae*.
Tratamientos: maceta 1=HC1; maceta 5= HC3; maceta 6= HC7; maceta 7= T3.

Figura 2.- Efecto del hidrocarburo sobre el crecimiento de alfalfa inoculada y no inoculada con *G. fasciculatum*.
Tratamientos: maceta 1=HC1; maceta 2= HC5; maceta 3= HC8; maceta 4= T5.

Figura 3.- Comparación en la respuesta de crecimiento de plantas de alfalfa inoculadas con *G.mosseae* (maceta 6) y *G.fasciculatum* (maceta 3).