

Determinación del número de propágulos micorrizales infectivos de cinco suelos del Oriente

antioqueño Determining the number of infective mycorrhizal propagules of five soils of eastern region in Antioquia, Colombia

Jorge Alberto Sierra Escobar¹
María Isabel Domínguez Rave²
Wilson Camilo Díaz Díaz³

Resumen

Se realizó una investigación con el objetivo de determinar el número más probable de propágulos micorrizales infectivos (NMP) procedentes de diferentes suelos del Oriente antioqueño. Los muestreos de suelo fueron realizados en diferentes coberturas vegetales: suelo agrícola, bosque mixto, rastrojo bajo, helechal y suelo minero. A cada suelo se le realizó la prueba del NMP, la cual consiste en cinco diluciones seriales que componen los tratamientos. La primera dilución estaba compuesta por 20 g de suelo por 180 g de un sustrato esterilizado, de la cual se extraía 20 g para la segunda dilución y así sucesivamente hasta la quinta. Como planta indicadora se utilizó *Tagete patula*. Después de la cosecha del material vegetal, se tiñeron las raíces para facilitar la observación de estructuras del hongo. La observación de las raíces se realizó en el estereoscopio con la técnica de presencia-ausencia de hongos micorrízico-arbusculares (HMA). Además, se determinó el número de esporas por gramo de suelo. Los resultados obtenidos revelan valores que oscilan entre 2.300 y 6.700 esporas/100 g de suelo. A pesar de la gran cantidad de esporas encontradas en los suelos evaluados, el número de propágulos infectivos fue relativamente bajo, con valores que varían entre 39 y 110 propágulos/100 g de suelo, siendo mayor los propágulos infectivos de HMA en las coberturas vegetales como rastrojo bajo y helechal. Caso contrario se evidencia en bosque mixto, que presenta una baja cantidad de esporas y propágulos infectivos. Finalmente, los datos sugieren que la prueba del NMP arroja resultados realistas sobre los propágulos micorrizales infectivos que se encuentran en los suelos evaluados.

Palabras clave: Propágulos micorrizales infectivos, Hongos micorrizas arbusculares (HMA), Coberturas vegetales.

¹ Grupo de estudios florísticos y Facultad de Ingeniería, Universidad Católica de Oriente. Rionegro, Antioquia, Colombia. Correo electrónico: jsierra@uco.edu.co;

² Grupo de estudios florísticos y Unidad de Biotecnología, Universidad Católica de Oriente, Rionegro, Antioquia, Colombia. Correo electrónico mdominguez@uco.edu.co

³ Ingeniero ambiental, Universidad Católica de Oriente, Rionegro, Antioquia, Colombia. Correo electrónico: camilo406329@hotmail.com

Abstract An investigation was conducted to determine the most probable number of infectious mycorrhizal propagules (NMP), from different soils of Eastern Antioquia. The soil sampling were conducted in several vegetable toppings such as: agricultural land, mixed forest, low shrubs, bracken and soil mining. To each soil was performed NMP test, which consists of five serial dilutions up treatments. The first dilution was composed of 20 g of soil per 180 g of a sterilized substrate, of which 20 g was extracted for the second dilution and so on until the fifth. *Tagetes patula* plant as an indicator was used. After harvesting the plant material, the roots were stained to facilitate observation of fungal structures. The observation of the roots was performed in stereoscopic technique with presence-absence of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). Furthermore, the number of spores per gram of soil was determined. The results show values ranging between 2300 and 6700 spores/100 g soil. Despite the large number of spores found in the soil evaluated the number of infective propagules was relatively low, with values ranging between 39 and 110 propagules/100 g soil, founded more infective propagules of AMF in stubble low and bracken. Otherwise it evidenced by mixed forest, which has a low amount of spores and infective propagules. Finally, the data suggest that the throws NMP realistic test results on infective mycorrhizal propagules are evaluated in soils.

Key words: Infective propagules mycorrhiza, arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), vegetable hedges.

Introducción

La destrucción de los bosques tropicales es uno de los principales problemas ambientales con serias consecuencias económicas y sociales (Laurance, 1999). Estos albergan cerca del 70 % de las especies de flora y fauna del mundo, influyen en el clima local y regional, regulan el caudal de los ríos y proveen una amplia gama de productos maderables y no maderables (Arnold y Pérez, 2001; Malhi y Phillips, 2004; Costanza et al., 1997). En el desarrollo de los suelos de estos bosques influyen diferentes organismos que mediante su trabajo con la naturaleza hacen un aporte significativo al perfeccionamiento de la estructuración y desarrollo de los ecosistemas, y uno de los principales organismos son los hongos. Se calcula que hay más de 1.500.000 especies de hongos, ocupando el segundo lugar en cantidad después de los insectos (Hawksworth, 1991). La importancia que tienen los hongos para el medio ambiente radica en su condición desintegradora de materia orgánica y en las asociaciones parasitarias o simbióticas que establecen con muchos organismos (Guzmán, 1995).

Los hongos cumplen un papel fundamental en la regulación de los hábitats terrestres, al influir en la productividad, diversidad y estructura de las

comunidades vegetales (Van der Heijden, Bardgett y Van Straalen, 2008). Por tal motivo, cuando los hongos descomponen la materia orgánica quedan disponibles en el suelo gran cantidad de nutrientes que son nuevamente absorbidos por las plantas; la absorción puede ser directa a través de las raíces o indirecta, a través de los microorganismos que forman simbiosis con las raíces, entre los cuales están los hongos micorrizo arbusculares (HMA) (Sánchez, 1999). Los HMA son el grupo más representativo al formar asociaciones con el 80 % de las especies de plantas, principalmente tropicales (Sylvia, Fuhrmann, Hartel y Zuberer, 2005). Son diversos los beneficios que obtiene la planta por esta asociación: Incrementa la captación de nutrientes, especialmente P, Cu, y Zn (Bolan, 1991; Sieverding, 1991; Jakobsen et al., 1992; Johansen et al., 1993), mejora la estructura del suelo, aumenta la resistencia de la planta al estrés biótico y abiótico y favorece las interacciones con otros microorganismos benéficos (Sieverding, 1991; Haselwandter y Bowen, 1996; Barea, Azcón y Azcón, 2002; Mansfeld, Larsen y Bødker, 2002; Elsen, Baimey, Swennen y De Waele, 2003; Johansson, Paul y Finlay, 2004).

Por otra parte, la viabilidad, la abundancia y la riqueza de los HMA se pueden ver afectadas

por factores climáticos y bióticos como el tipo de comunidad vegetal, las condiciones fisiológicas de la planta hospedera y las interacciones con otros microorganismos del suelo (Jasper, Abbott y Robson, 1989; Cuenca, Herrera y Meneses, 1990; Lovelock, Andersen y Morton, 2003; Kabir, 2005; Tchabi, Coyne, Hountondji, Lawouin, Wiemken y Oehl, 2008), y por actividades antrópicas originadas por la deforestación, los sistemas de cultivo y potreros, la aplicación de agroquímicos, la explotación forestal, la minería y el crecimiento y desarrollo de infraestructura urbana, los cuales causan drásticos desequilibrios físicos al suelo y reducen el potencial del inóculo natural de los HMA (Fischer, Janos, Perry, Linderman y Sollins, 1994; Picone, 2000; Geist y Lambin, 2002; Aguilar-Fernández, Jaramillo, Varela y Gavito, 2009).

Para conocer cómo las actividades antrópicas afectan negativamente las poblaciones de hongos simbióticos del suelo, en especial los HMA, se han realizado estudios de evaluación de suelos donde se analizan las raíces y el rizoplasma y se determinan variables como: el porcentaje de colonización de raíces, la biomasa, la longitud de hifas y la densidad de propágulos de HMA (Pearson y Jakobsen, 1993; Brundrett, Melville y Peterson, 1994; Corkidi y Rincón, 1998; Simard y Durall, 2004), con técnicas como tamizado en húmedo o mediante el uso de un método de flotación de adherencia (Ohms, 1957; Mosse y Jones, 1968; Furlan y Fortin, 1975) o se cuentan directamente las esporas (Allen, Allen, Egerton, Corkidi y Gómez, 2003; Carvalho, Correia, Ryel y Martins, 2003). Las anteriores metodologías son dispendiosas, imprecisas y no se correlacionan con la efectividad simbiótica micorrizal. El conteo de esporas es un método sencillo y rápido ampliamente utilizado, infortunadamente, no es un buen indicador del potencial simbiótico micorrizal de un suelo o un inóculo, debido a

que solo tiene en cuenta un propágulo micorrizal infectivo (esporas), y las esporas en sí presentan dificultades de observación como su tamaño, ya que algunas son muy pequeñas para ser extraídas o tienen esporas grandes que se precipitan y dificultan su extracción (Hall, 1977; Clarke y Mosse, 1978), además, algunos hongos no producen esporas y si las producen pueden tener latencia larga (Baylis, 1969).

Debido a esta problemática, para conocer el potencial simbiótico de los HMA existen técnicas más precisas que evalúan la infectividad y efectividad de un inóculo o suelo, en donde se tienen en cuenta todos los propágulos micorrizales infectivos (Sieverding, 1991). Métodos como la determinación de la capacidad de organismos de hongos para formar micorriza arbuscular con hospederos (Moorman y Reeves, 1979) o la técnica del número más probable (NMP) propuesta por Porter (1979). Estas técnicas permiten evaluar la calidad de un inóculo o suelo, ya que tienen en cuenta todos los propágulos infectivos de los HMA, y proporcionan una estimación realista global de la condición de los HMA (An, Hendrix, Hershman y Henson, 1990; Cabello, 1997) e incluso permiten la detección de especies de HMA que no producen esporas (Troeh y Loynachan, 2003). En este sentido, la técnica de NMP de Porter (1979) se presenta como una posible solución a los problemas que se enfrentan al utilizar los métodos habituales del conteo de esporas. Por tal motivo, el presente estudio pretende determinar el número más probable de propágulos micorrizales infectivos, en suelos contrastantes del Oriente antioqueño.

Metodología

Área de estudio: El estudio se realizó en áreas aledañas de tres municipios del departamento de Antioquia (Colombia), todos ellos ubicados al oriente del mismo, en la zona de vida bosque

húmedo montano bajo (bh-MB) propuesta de Holdridge (1967). Las áreas de estudio están ubicadas en la vereda Santa Bárbara del municipio de Rionegro, vereda La Honda del municipio de Guarne y el corregimiento de Santa Elena en el municipio de Medellín. Cada uno de estos presentó diferentes características en su geografía y condiciones climáticas, variando así sus rangos altitudinales y temperaturas.

Selección de sitios de muestreo: Se seleccionaron cinco sitios de muestreo, que presentan diferentes coberturas vegetales. Bosque mixto (BM), Rastrojo bajo (RB), Helechal (HL), Suelo agrícola (SA) y Suelo minero (SM). Estas coberturas permitieron conocer en parte la dinámica de los HMA en los diferentes suelos (Figura 1).



Figura 1. Coberturas vegetales evaluadas: Suelo minero (SM), Rastrojo bajo (RB), Suelo agrícola (SA), Bosque mixto (BM) y Helechal (HL).

Fuente: archivo propio.

Helechal (HL): Ubicado en la vereda La Honda del municipio de Guarne, presenta escasos individuos, excepto por *Pteridium arachnoideum* que tiene una marcada dominancia que impide que otras especies se desarrollen.

Rastrojo bajo (RB): Ubicado en la vereda La Honda del municipio de Guarne, es un suelo con gran cantidad de restos vegetales, consecuencia de una tala de la vegetación del bosque. Además cuenta con presencia de especies pioneras típicas, pertenecientes principalmente a las familias Asteraceae, Ericaceae y Melastomataceae.

Suelo agrícola (SA): Ubicado en la vereda Santa Bárbara del municipio de Rionegro, allí se encuentran establecidos diferentes cultivos como maíz, frijón y papa que aprovechaban las condiciones de fertilidad y de disponibilidad de superficie para crecer.

Bosque mixto (BM): El muestreo fue realizado en un bosque en el corregimiento de Santa Elena del municipio de Medellín. Cuenta con buena diversidad de especies de plantas, lo que permite interacciones importantes y complejas de diferentes organismos.

Suelo minero (SM): Ubicado en la vereda La Honda del municipio de Guarne. Presenta poca diversidad en especies vegetales por la erosión del suelo, fruto de labores de minería que allí se desarrollaban.

Toma de muestras de suelo: Para la toma de muestras se removió la primera capa de hojarasca, se tomaron 10 submuestras al azar de 100 g aproximadamente a 10 cm de profundidad de cada una de las coberturas vegetales evaluadas. Las muestras de suelo fueron llevadas al laboratorio para ser tamizadas y realizar los diferentes análisis.

Sustrato de crecimiento: Se utilizó un sustrato esterilizado en autoclave a 120 oC y 129 PSI, compuesto por arena (100 %). A dicho sustrato se le realizó una isoterma de adsorción de P (Figura 2), con el fin de ajustarlo a una concentración de P soluble de 0,02 mg L⁻¹, nivel óptimo para que exista asociación micorrizal (Habte y Osorio, 2001). Se aplicaron 8,49 g de KH₂PO₄ por kg de suelo.

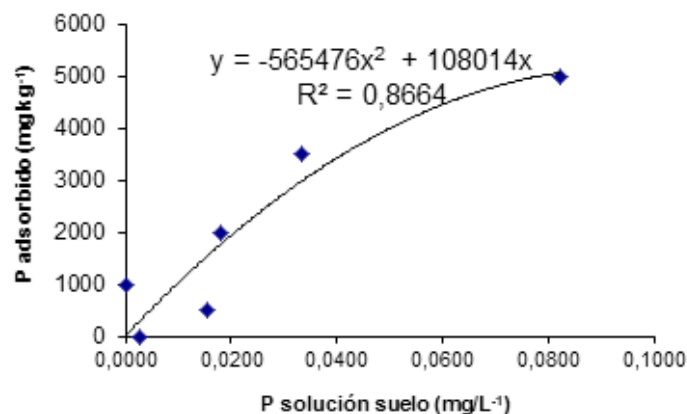


Figura 2. Isoterma de adsorción de P.

Número más probable: Se determinó el número más probable (NMP) de propágulos micorrizales infectivos a las muestras de suelos de las diferentes coberturas vegetales evaluadas (Porter, 1979). Para este propósito se realizaron mezclas de cada unidad experimental con 20 g de suelo seco de la cobertura vegetal evaluada y 180 g de sustrato esterilizado. Para el montaje, se emplearon diluciones de 10⁻¹ a 10⁻⁵, cada una con 5 repeticiones por dilución, para un total de 25 unidades experimentales. Como especie indicadora se utilizó *Tagete patula*, especie de reconocida respuesta a la condición micorrizal (Restrepo, Giraldo y Cardona, 1997). Semanalmente se aplicó la solución nutritiva Hoagland libre de P hasta el final del experimento (Porter, 1979). Una vez germinadas las semillas, se dio un plazo de 65 días para realizar el protocolo de tinción propuesto por Kormanik, McGraw y Schultz (1980). La observación de la raíces se realizó en el estereoscopio con la técnica de presencia-ausencia y los resultados se analizaron con la tabla de Cochran (1950).

Tinción de raíces: Una vez colectadas las raíces de la especie indicadora *Tagete patula*, se les hizo un triple lavado y se cortaron en segmentos de 1 cm, posteriormente se depositaron 0,6 g de raíces frescas en frascos de 30 ml previamente rotulados. Para remover el contenido citoplasmático de las células de las raíces, se agregó KOH al 10 %, cubriendo completamente las raíces durante 24 h a temperatura ambiente. Pasado este tiempo, se realizó un triple lavado con agua destilada para eliminar el exceso de KOH, luego se cubrieron las raíces con HCL al 10 % durante 5-10 min para acidificarlas y facilitar el proceso de tinción. Una vez retirado el HCL, se adicionó la solución colorante de fucsina ácida (10%), y se dejando sumergida la muestra de raíz durante 24 h. Finalmente, se removió la fucsina ácida con una solución decolorante (10 %) (Kormanik *et al.*, 1980).

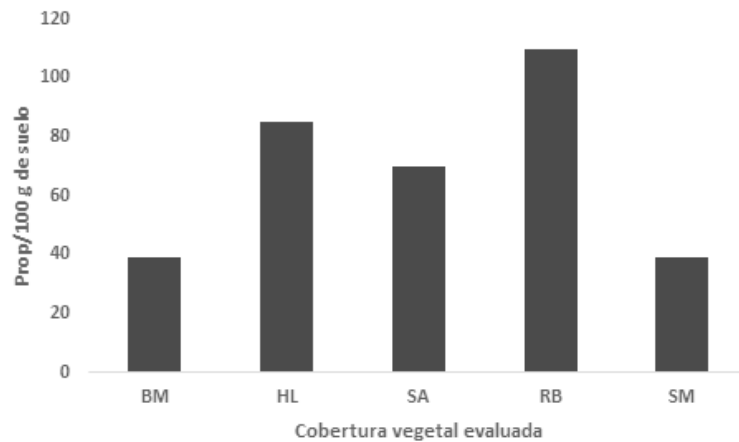
Conteo de esporas: Para el conteo de esporas se utilizó una submuestra del suelo de las coberturas vegetales, cada submuestra se trasladó a un beaker con 300 ml de agua corriente y 0,15 g de pirofosfato de sodio. Se agito y se dejó reposar por 30 s, el sobrenadante pasó por una batería de tamices (250, 106 y 53 μ m diámetro poro). El material colectado en el tamiz de 53 μ m se centrifugó junto con una solución de sacarosa al 70 % durante 5 m. Posteriormente, el sedimento fue recogido en papel filtro de acuerdo con lo sugerido por Habte y Osorio (2001). Finalmente se realizó el conteo del número de esporas de HMA bajo el estereoscopio.

Resultados y discusión

Los resultados obtenidos con la técnica del número más probable revelan valores que oscilan entre 2.300 y 6.700 esporas/100 g de suelo. A pesar de la gran cantidad de esporas encontradas en los suelos evaluados, el número de propágulos infectivos fue relativamente bajo, con valores que varían entre 39 y 110 propágulos/100 g de suelo, siendo mayores los propágulos infectivos y esporas de HMA en las coberturas vegetales como RB y HL; caso contrario se evidencia en BM, que presenta una baja cantidad de esporas y propágulos infectivos (*Tabla 1*) (*Figura 3*). Estos resultados son consistentes con los trabajos de Stürmer y Siqueira (2011 en el Amazonas, donde encontraron que el menor número de esporas estaba en el bosque prístino en comparación con cultivos y bosques secundarios.

Tabla 1. NMP y número de esporas encontradas en los suelos de las diferentes coberturas evaluadas

Cobertura vegetal	NMP (Prop/100 g de suelo)	(Número esporas/100 g de suelo)
Bosque mixto (BM)	39	3.700
Helechal (HL)	85	6.700
Suelo agrícola (SA)	70	4.300
Rastrojo bajo (RB)	110	5.200



Suelo minero (SM)	39	2.300
----------------------------	----	-------

Figura 3. Propágulos micorrizales infectivos encontrados en suelos procedentes de las diferentes coberturas.

Bosque mixto (**BM**), Helechal (**HL**), Suelo agrícola (**SA**), Rastrojo bajo (**RB**) y Suelo minero (**SM**).

Existe controversia al relacionar el número de esporas de HMA y la colonización micorrizal de la raíz (Hayman y Stovold, 1979), es decir, el número de esporas de HMA del suelo no está fuertemente correlacionado con la infectividad, ya que existen variables que afectan las esporas como la latencia y su germinación; por el contrario, el NMP es una técnica que tiene en cuenta todos los propágulos infectivos del hongo (Habte y Osorio, 2001). Estas diferencias en el número de esporas de los HMA del suelo podrían estar relacionadas con distintas estrategias de supervivencia de las

especies de HMA al habitar en un ecosistema determinado (McGee, 1989; Allen, 1991). Es decir, el ciclo de vida de los HMA presenta una alta adaptación al ambiente que los rodea, sobre todo durante la etapa de formación de las esporas (Camargo-Ricalde, 2002), y su habilidad competitiva puede ser afectada por diversos factores, tales como la fenología propia de cada una de las especies de los HMA y de la planta hospedera, la frecuencia del inóculo, el tiempo diferencial de incubación, la distribución espacial de los propágulos que interactúan, el rasgo genético específico del HMA y la presencia de ectomicorrizas (Whitford, 1984; Koske, 1987; Sanders, Clapp y Wiemken,

1996; Moyersoen, Fitter y Alexander, 1998).

De otro lado, los HMA se pueden ver afectados por varios factores, como la fertilidad del suelo. Cuando el nivel de la solución del fósforo es inferior a 0,02 mg y es poco accesible para las raíces de las plantas hospederas, estas plantas responden dramáticamente y se ve afectada la colonización de los HMA (Habte y Osorio, 2001). Asimismo, son fuertemente afectados por actividades agrícolas y mineras, las cuales deterioran el suelo de manera irreversible y evitan que la inoculación simple de los HMA cumpla la función simbiótica de los hongos (Habte y Osorio, 2001).

En general el suelo agrícola presenta reportes sobre la afectación directa de los HMA y la reducción del número de propágulos infectivos de HMA por influencias de actividades continuas en el suelo, como labranza, fertilización con productos sintéticos y el uso constante de plaguicidas (St. John, 1987; Munyanziza, Kehri y Bagyaraj, 1997; Rillig, 2004). Reportes obtenidos en diferentes estudios en este suelo muestran que en el 2006 se encontraron 2.700 propágulos infectivos de HMA y el cultivo dominante fue fríjol; en el 2009 se encontraron 411 esporas/100 g suelo, teniendo el pimentón como cultivo agrícola establecido (Sierra, 2006), a este suelo se le realizó la prueba de efectividad simbiótica micorrizal, que arrojó alta efectividad simbiótica micorrizal (Osorio, Díez, Sierra y Paternina, 2008), lo que sugiere que el manejo del suelo, la especie de planta y la rotación de cultivos pueden cambiar dramáticamente las poblaciones de HMA y afectar su dinámica. Sin embargo, el SA utilizado para este estudio presentó 70 propágulos/100g suelo y gran cantidad de esporas (4.300), lo que sugiere que los HMA son adaptables incluso a condiciones desfavorables, y que además los ciclos cortos de producciones agrícolas (menores a seis meses) enriquecen los HMA por acciones de diferentes plantas presentes en algunos cultivos, como por ejemplo el maíz y

el fríjol (Osorio et al., 2008).

Por otro lado, en dos de los suelos evaluados de las coberturas BM y SM se encontró un bajo número de esporas con respecto a los demás suelos evaluados (HL, SA y RB). De acuerdo con algunos estudios, las variaciones en el número de esporas de HMA pueden estar ligadas a patrones estacionales de esporulación, lo cual puede variar de acuerdo con la especie de HMA o de la planta (Mosse y Bowen, 1968; Dhillion y Anderson, 1993; Jacobson, 1997). De la misma manera, algunos estudios han determinado que la distribución, actividad y supervivencia de los HMA pueden recibir la influencia de diferentes factores y procesos químicos, físicos y biológicos del suelo, como fertilidad, humedad, compactación, profundidad, saturación de agua, pH y topografía (Green, Graham y Schenck, 1976; Anderson, Liberta y Dickman, 1984; Virginia, Jenkins y Jarrell, 1986; Cooke, Butler y Madole, 1993; Nadian, Smith, Alston y Murray, 1997), pero también pueden ser influenciadas por inundaciones, sismos, incendios, temperatura, intensidad de luz, latitud y altitud (Allen et al. 1995; Gibson y Hetrick, 1988), y además por la actividad propia de la fauna asociada al suelo.

Diferentes autores sugieren que los propágulos infectivos y las esporas de los HMA permanecen en áreas de rastrojo y sitios abandonados influenciados por diferentes actividades físicas y biológicas como la quema de grandes áreas, la colonización de especies pioneras, y las grandes corrientes de viento que dispersan las esporas de estos hongos (Warner, Allen y MacMahon, 1987; Jordan, Zhang y Huerd, 2000; Guadarrama, Castillo, Ramos, Camargo y Álvarez, 2008; Lekberg, Koide y Twomlow, 2008; Aguilar et al., 2009). El conteo de esporas realizado a las coberturas vegetales provenientes de los HL y RB superan valores de 5.200 esporas/100 g suelo, valores altos

para estos estudios en comparación con las demás áreas evaluadas. Esto puede estar influenciado por el inicio de la creciente colonización de nuevas raíces procedentes de especies pioneras (Siqueira, Colozzi, de Oliveira, Fernandes y Florence, 1987; Zangaro, Bononi y Trufen, 2000; Zangaro, Nisizaki, Domingos y Nakano, 2003) y por una mayor adquisición de nutrientes durante la temporada de crecimiento de nuevas especies de plantas (Corkidi y Rincón, 1997).

Finalmente, se puede inferir que la técnica del número más probable de propágulos micorrizales infectivos es un excelente indicador de la condición micorrizal, lo que la convierte en una herramienta práctica para tomar decisiones, bien sea para enriquecer los HMA de un suelo determinado o abstenerse de aplicar inóculos de HMA comerciales.

Referencias bibliográficas

- Aguilar-Fernández, M., Jaramillo, V. J., Varela-Fregoso, L. y Gavito, M. E. (2009). Short-term consequences of slash-and-burn practices on the arbuscular mycorrhizal fungi of a tropical dry forest. *Mycorrhiza*, 19(3), 179-186.
- Allen, E. B., Allen, M. F., Egerton-Warburton, L., Corkidi, L. y Gómez-Pompa, A. (2003). Impacts of early-and late-seral mycorrhizae during restoration in seasonal tropical forest, Mexico. *Ecological Applications*, 13(6), 1701-1717.
- Allen, E. B., Allen, M. F., Helm, D. J., Trappe, J. M., Molina, R. y Rincón, E. (1995). Patterns and regulation of mycorrhizal plant and fungal diversity. *Plant and Soil*, 170(1), 47-62.
- Allen, M. F. (1991). *The ecology of mycorrhizae*. New York: Cambridge University Press.
- An, Z. Q., Hendrix, J. W., Hershman, D. E. y Henson, G. T. (1990). Evaluation of the "most probable number" (MPN) and wet-sieving methods for determining soil-borne populations of endogonaceous mycorrhizal fungi. *Mycologia*, 576-581.
- Anderson, R. C., Liberta, A. E. y Dickman, L. A. (1984). Interaction of vascular plants and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi across a soil moisture-nutrient gradient. *Oecologia*, 64(1), 111-117.
- Arnold, J. M. y Pérez, M. R. (2001). Can non-timber forest products match tropical forest conservation and development objectives? *Ecological economics*, 39(3), 437-447.
- Barea, J. M., Azcón, R. y Azcón-Aguilar, C. (2002). Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81(1-4), 343-351.
- Baylis, G. T. S. (1969). Host treatment and spore production by *Endogone*. *New Zealand Journal of Botany*, 7(2), 173-174.
- Bolan, N. S. (1991). A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and soil*, 134(2), 189-207.
- Brundrett, M. C., Melville, L. y Peterson, L. (Eds.) (1994). *Practical methods in mycorrhiza research*. Waterloo: Mycologue Publications.
- Cabello, M. N. (1997). Hydrocarbon pollution: Its effect on native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). *FEMS Microbiology Ecology*, 22(3), 233-236.
- Camargo-Ricalde, S. L., Dhillion, S. S. y Grether, R. (2002). Community structure of endemic *Mimosa* species and environmental heterogeneity in a semi-arid Mexican valley. *Journal of Vegetation Science*, 13(5), 697-704.
- Carvalho, L. M., Correia, P. M., Ryel, R. J. y Martins-Loução, M. A. (2003). Spatial variability of arbuscular mycorrhizal fungal

- spores in two natural plant communities. *Plant and Soil*, 251(2), 227-236.
- Clarke, C. A. y Mosse, B. (1978). Recovery of VA mycorrhizal spores after germination. *Rothamsted Exp Stn Rep*, 239.
- Cochran, W. G. (1950). Estimation of bacterial densities by means of the "most probable number". *Biometrics*, 6(2), 105-116.
- Cooke, J. C., Butler, R. H. y Madole, G. (1993). Some observations on the vertical distribution of vesicular arbuscular mycorrhizae in roots of salt marsh grasses growing in saturated soils. *Mycologia*, 547-550.
- Corkidi, L. y Rincón, E. (1998). Arbuscular mycorrhizae in a tropical sand dune ecosystem on the Gulf of Mexico I. Mycorrhizal status and inoculum potential along a successional gradient. *Mycorrhiza*, 1(7).
- Costanza, R., Arge, R., Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., O'Neill, R., Paruelo, J., Raskin, R., Sutton, P. y Van den Belt, M. (1997). The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Ecological economics*, 1(25), 3-15.
- Cuenca, G., Herrera, R. y Meneses, E. (1990). Effects of VA mycorrhiza on the growth of cacao seedlings under nursery conditions in Venezuela. *Plant and Soil*, 126(1), 71-78.
- Dhillon, S. S. y Anderson, R. C. (1993). Seasonal dynamics of dominant species of arbuscular mycorrhizae in burned and unburned sand prairies. *Canadian Journal of Botany*, 71(12), 1625-1630.
- Elsen, A., Baimey, H., Swennen, R. y De Waele, D. (2003). Relative mycorrhizal dependency and mycorrhiza-nematode interaction in banana cultivars (*Musa spp.*) differing in nematode susceptibility. *Plant and soil*, 256(2), 303-313.
- Fischer, C. R., Janos, D. P., Perry, D. A., Linderman, R. G. y Sollins, P. (1994). Mycorrhiza inoculum potentials in tropical secondary succession. *Biotropica*, 369-377.
- Furlan, V., y Fortin, J. A. (1975). Flotation-bubbling system for collecting Endogonaceae spores from sieved soil. *Naturaliste canadien*. 102:663-667.
- Geist, H. J. y Lambin, E. (2002). Proximate causes and underlying driving forces a nonrenewable resource. *Science*, 177, 762-765.
- Gibson, D. J. y Hetrick, B. D. (1988). Topographic and fire effects on the composition and abundance of VA-mycorrhizal fungi in tallgrass prairie. *Mycologia*, 433-441.
- Green, N. E., Graham, S. O. y Schenck, N. C. (1976). The influence of pH on the germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores. *Mycologia*, 929-934.
- Guadarrama-Chávez, P., Castillo-Argüero, S., Ramos-Zapata, J. A., Camargo-Ricalde, S. L. y Alvarez-Sánchez, F. J. (2008). Propagules of arbuscular mycorrhizal fungi in a secondary dry forest of Oaxaca, Mexico. *Revista de Biología Tropical*, DOI: 10.15517/rbt.v56i1.5523
- Guzmán, G. (1995). La diversidad de hongos en México. *Ciencias*, (039).
- Habte, M. y Osorio, N. W. (2001). Arbuscular mycorrhizas: Producing and applying arbuscular mycorrhizal inoculum. University of Hawaii.
- Hall, I. R. (1977). Species and mycorrhizal infections of New Zealand Endogonaceae. *Transactions of the British Mycological Society*, 68(3), 341-356.
- Haselwandter, K. y Bowen, G. D. (1996). Mycorrhizal relations in trees for agroforestry and land rehabilitation. *Forest Ecology and Management*, 81(1), 1-17.
- Hawksworth, D. L. (1991). The fungal dimension of biodiversity: Magnitude, significance, and

- conservation. *Mycological research*, 95(6), 641-655.
- Hayman, D. S. y Stovold, G. E. (1979). Spore populations and infectivity of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in New South Wales. *Australian Journal of Botany*, 27(3), 227-233.
- Jacobson, K. M. (1997). Moisture and substrate stability determine VA-mycorrhizal fungal community distribution and structure in an arid grassland. *Journal of Arid Environments*, 35(1), 59-75.
- Jakobsen, I., Abbott, L. K., y Robson, A. D. (1992). External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. 1. Spread of hyphae and phosphorus inflow into roots. *New Phytologist*, 371-379.
- Jasper, D. A., Abbott, L. K. y Robson, A. D. (1989). Soil disturbance reduces the infectivity of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 112(1), 93-99.
- Johansen, A., Jakobsen, I. y Jensen, E. S. (1993). External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. 3. Hyphal transport of ^{32}P and ^{15}N . *New Phytologist*, 61-68.
- Johansson, J. F., Paul, L. R. y Finlay, R. D. (2004). Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS microbiology ecology*, 48(1), 1-13.
- Jordan, N. R., Zhang, J. y Huerd, S. (2000). Arbuscular-mycorrhizal fungi: Potential roles in weed management. *Weed Research-Oxford*, 40(5), 397-410.
- Kabir, Z. (2005). Tillage or no-tillage: Impact on mycorrhizae. *Canadian Journal of Plant Science*, 85(1), 23-29.
- Kormanik P., McGraw A. y Schultz R. (1980). Procedure and equipment for staining a large number of plant samples for endomycorrhizal assay. *Can. J. Microbiol*, 26, 536-538.
- Koske, R. E. (1987). Distribution of VA mycorrhizal fungi along a latitudinal temperature gradient. *Mycologia*, 55-68.
- Laurance, W. F. (1999). Reflections on the tropical deforestation crisis. *Biological Conservation*, 91(2), 109-117.
- Lekberg, Y., Koide, R. T. y Twomlow, S. J. (2008). Effect of agricultural management practices on arbuscular mycorrhizal fungal abundance in low-input cropping systems of southern Africa: A case study from Zimbabwe. *Biology and Fertility of Soils*, 44(7), 917-923.
- Lovelock, C. E., Andersen, K. y Morton, J. B. (2003). Arbuscular mycorrhizal communities in tropical forests are affected by host tree species and environment. *Oecologia*, 135(2), 268-279.
- Malhi, Y. y Phillips, O. L. (2004). Tropical forests and global atmospheric change: A synthesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 359(1443), 549-555.
- Mansfeld-Giese, K., Larsen, J. y Bødker, L. (2002). Bacterial populations associated with mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *FEMS microbiology ecology*, 41(2), 133-140.
- McGee, P. A. (1989). Variation in propagule numbers of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a semi-arid soil. *Mycological Research*, 92(1), 28-33.
- Moorman, T. y Reeves, F. B. (1979). The role of endomycorrhizae in revegetation practices in the semi-arid west. II. A bioassay to determine the effect of land disturbance on endomycorrhizal populations. *American Journal of Botany*, 14-18.
- Mosse, B. y Bowen, G. D. (1968). The distribution of *Endogone* spores in some

- Australian and New Zealand soils, and in an experimental field soil at Rothamsted. *Transactions of the British Mycological Society*, 51(3), 485-492.
- Mosse, B. y Jones, G. W. (1968). Separation of Endogone spores from organic soil debris by differential sedimentation on gelatin columns. *Transactions of the British Mycological Society*, 51(3), 604-608.
- Moyersoen, B., Fitter, A. H. y Alexander, I. J. (1998). Spatial distribution of ectomycorrhizas and arbuscular mycorrhizas in Korup National Park rain forest, Cameroon, in relation to edaphic parameters. *New Phytologist*, 139(2), 311-320.
- Munyanziza, E., Kehri, H. K. y Bagyaraj, D. J. (1997). Agricultural intensification, soil biodiversity and agro-ecosystem function in the tropics: The role of mycorrhiza in crops and trees. *Applied Soil Ecology*, 6(1), 77-85.
- Nadian, H., Smith, S. E., Alston, A. M. y Murray, R. S. (1997). Effects of soil compaction on plant growth phosphorus uptake and morphological characteristics of vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization of *Trifolium subterraneum*. *New phytologist*, 135(2), 303-311.
- Ohms, R. E. (1957). A flotation method for collecting spores of a phycomycetous mycorrhizal parasite from soil. *Phytopathology*, 47(12), 751-752.
- Osorio, W., Díez, M. C., Sierra, J. y Paternina, L. (2008). Consideraciones ecológicas sobre la asociación micorrizal en suelos de la región altoandina. *Ecología de bosques andinos. Experiencias de investigación*. La Carreta Editores. Medellín, 181-200.
- Pearson, J. N. y Jakobsen, I. (1993). The relative contribution of hyphae and roots to phosphorus uptake by arbuscular mycorrhizal plants, measured by dual labelling with ³²P and ³³P. *New Phytologist*, 124(3), 489-494.
- Picone, C. (2000). Diversity and abundance of arbuscular-mycorrhizal fungus spores in tropical forest and pasture 1. *Biotropica*, 32(4), 734-750.
- Porter, W. M. (1979). The most probable number method for enumerating infective propagules of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in soil. *Soil Research*, 17(3), 515-519.
- Restrepo, D. C., Giraldo, D. D. J. R., y Cardona, M. C. G. (1997). Establecimiento de bancos de micorrizas vesículo arbusculares en viveros del Oriente antioqueño. Rionegro: CORNARE, Universidad Católica de Oriente.
- Rillig, M. C. (2004). Arbuscular mycorrhizae and terrestrial ecosystem processes. *Ecology Letters*, 7(8), 740-754.
- Sánchez de P. M. (1999). Endomicorrizas en agroecosistemas colombianos. Palmira, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Sanders, I. R., Clapp, J. P. y Wiemken, A. (1996). The genetic diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in natural ecosystems—a key to understanding the ecology and functioning of the mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*, 133(1), 123-134.
- Sierra J. A. (2006). Dependencia micorrizal de algunas especies arbóreas y efectividad simbiótica micorrizal en suelos de bosque montano bajo de oriente antioqueño (Tesis Magíster en Bosques y Conservación ambiental). Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín.
- Sieverding, E. (1991). Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical ecosystems. GTZ.
- Simard, S. W. y Durall, D. M. (2004). Mycorrhizal networks: A review of their extent, function, and importance. *Canadian Journal of Botany*, 82(8), 1140-1165.
- Siqueira, J. O., Colozzi-Filho, A., de Oliveira, E.,

- Fernandes, A. B. y Florence, M. L. (1987). Micorrizas vesicular-arbusculares em mudas de cafeiro produzidas no sul do Estado de Minas Gerais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 22(1), 31-38.
- St. John, T. V. (1987, April). Soil disturbance and the mineral nutrition of native plants. In *Proceedings of the second native plant revegetation symposium* (pp. 34-39). San Diego, CA.
- Stürmer S. y J. Siqueira (2011) Species richness and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi across distinct land uses in Western Brazilian Amazon. *Mycorrhiza*.21: 255 - 267.
- Sylvia, D. M., Fuhrmann, J. F., Hartel, P. G. y Zuberer, D. A. (2005). *Principles and applications of soil microbiology*. Upper Saddle River, NJ: Pearson Prentice Hall.
- Tchabi, A., Coyne, D., Hountondji, F., Lawouin, L., Wiemken, A. y Oehl, F. (2008). Arbuscular mycorrhizal fungal communities in sub-Saharan Savannas of Benin, West Africa, as affected by agricultural land use intensity and ecological zone. *Mycorrhiza*, 18(4), 181-195.
- Troeh, Z. I. y Loynachan, T. E. (2003). Endomycorrhizal fungal survival in continuous corn, soybean, and fallow. *Agronomy Journal*, 95(1), 224-230.
- Van Der Heijden, M. G., Bardgett, R. D. y Van Straalen, N. M. (2008). The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology letters*, 11(3), 296-310.
- Virginia, R. A., Jenkins, M. B. y Jarrell, W. M. (1986). Depth of root symbiont occurrence in soil. *Biology and Fertility of Soils*, 2(3), 127-130.
- Warner, N. J., Allen, M. F. y MacMahon, J. A. (1987). Dispersal agents of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a disturbed arid ecosystem. *Mycologia*, 721-730.
- Whitford, W. G. (1984). The importance of the biodiversity of soil biota in arid ecosystems. *Biodivers Conserv*, 5(2), 185-195.
- Zangaro, W., Bononi, V. L. R. y Trufen, S. B. (2000). Mycorrhizal dependency, inoculum potential and habitat preference of native woody species in South Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, 16(04), 603-622.
- Zangaro, W., Nisizaki, S. M. A. y Domingos, J. C. B. and Nakano, E. M. (2003). Mycorrhizal response and successional status in 80 woody species from south Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, 19(03), 315-324.