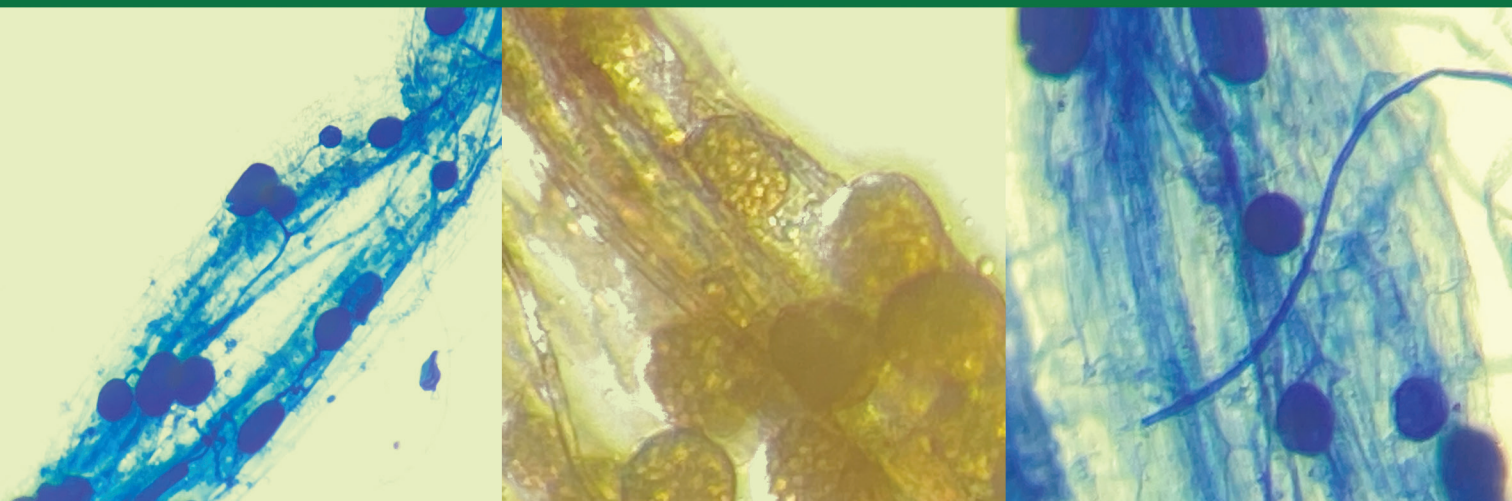


Manual de aislamiento y producción de hongos micorrízicos arbusculares



PERÚ

Ministerio
de Desarrollo Agrario
y Riego



Instituto Nacional de Innovación Agraria



MINISTERIO DE DESARROLLO AGRARIO Y RIEGO
INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACIÓN AGRARIA
DIRECCIÓN DE SUPERVISIÓN Y MONITOREO EN LAS ESTACIONES EXPERIMENTALES AGRARIAS

Manual de aislamiento y producción de hongos micorrízicos arbusculares



MANUAL DE AISLAMIENTO Y PRODUCCIÓN DE HONGOS MICORRÍDICOS ARBUSCULARES

MINISTERIO DE DESARROLLO AGRARIO Y RIEGO

Ministro de Desarrollo Agrario y Riego

Angel Manuel Manero Campos

Viceministra de Políticas y Supervisión del Desarrollo Agrario

Carmen Inés Vegas Guerrero

Viceministro de Desarrollo de Agricultura Familiar e Infraestructura Agraria y Riego

Iván Ramos Pastor

Jefe del INIA

Jorge Juan Ganoza Roncal, M. Sc.

© Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA)

Primera edición digital:

Abril 2025

Publicado:

Abril 2025

Disponible en:

<https://repositorio.inia.gob.pe/>

ISBN:

978-9972-44-176-9

Editado por:

Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA)

Equipo Técnico de Edición y Publicaciones

Av. La Molina 1981, Lima-Perú

Teléf. (511) 2402100 - 2402350

www.gob.pe/inia

Equipo Técnico de Edición y Publicaciones:

Janet Flores / **Teléfono:** 964173509 / **Correo electrónico:** comite_publicaciones@inia.gob.pe

Todos los derechos reservados.

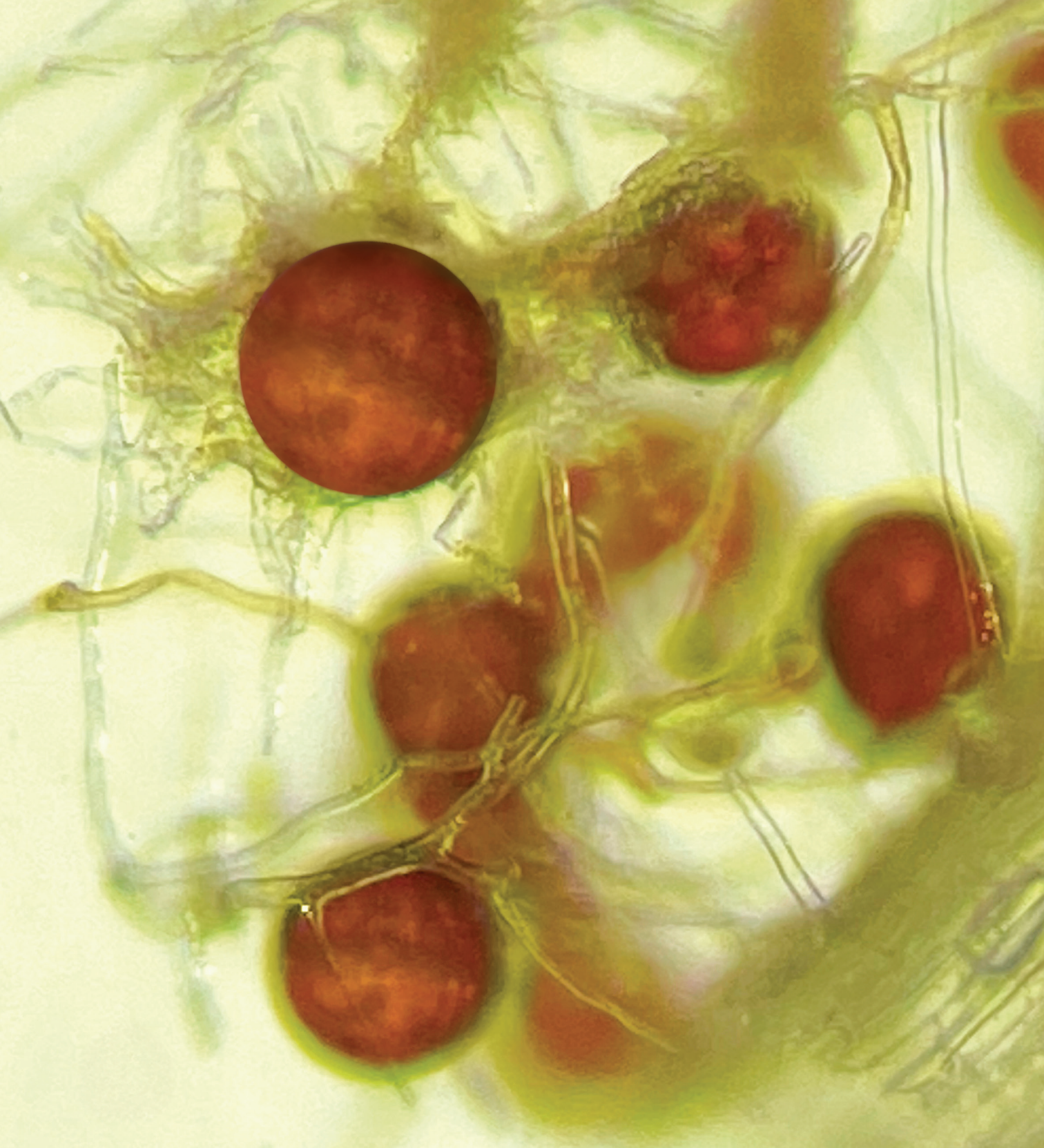
Prohibida la reproducción de este libro por cualquier medio, total o parcialmente, sin permiso expreso

Hecho el Depósito Legal en la Biblioteca Nacional del Perú N° 2025-03240

Autores: Yuri G. Arévalo-Aranda, Rita de Cassia Siquiera-Bahia, Henry Diaz-Chuquizuta, Lucero Huasasquiche-Sarmiento, Richard A. Solórzano-Acosta, Wendy E. Pérez-Porras / **Colaboradores:** Wilson Castañeda-Rodríguez; Jorge Paz-Urrelo / **Editor general:** Cinthia S. Quispe-Apaza / **Revisión de contenido:** Cinthia S. Quispe-Apaza, Héctor A. Ramírez-Maguiña / **Diseño y diagramación:** Miguel Alvarez-Escalante

Tabla de contenido

Presentación	7
1. Introducción	9
2. Definición y características generales	11
3. Importancia y mecanismos de acción de las micorrizas	13
4. Tipos de micorrizas	15
4.1. Ectomicorrizas	16
4.2. Ectendomicorrizas	18
4.3. Micorrizas arbutoides	18
4.4. Micorrizas ericoides	18
4.5. Micorrizas orquidioides	18
4.6. Micorrizas monotropoides	19
4.7. Micorrizas arbusculares	20
5. Métodos para la evaluación de hongos micorrícicos arbusculares	31
5.1. Muestreo rizosférico para la evaluación de hongos micorrícicos arbusculares	31
5.2. Medición de la colonización de raíces por hongos micorrícicos arbusculares	33
5.3. Extracción de esporas de hongos micorrícicos arbusculares del suelo	35
5.4. Evaluación de propágulos infectivos por el método del número más probable	36
5.5. Producción de inóculos de hongos micorrícicos arbusculares	38
5.6. Inoculación de micorrizas en plantas	40
6. Referencias bibliográficas	43



Presentación

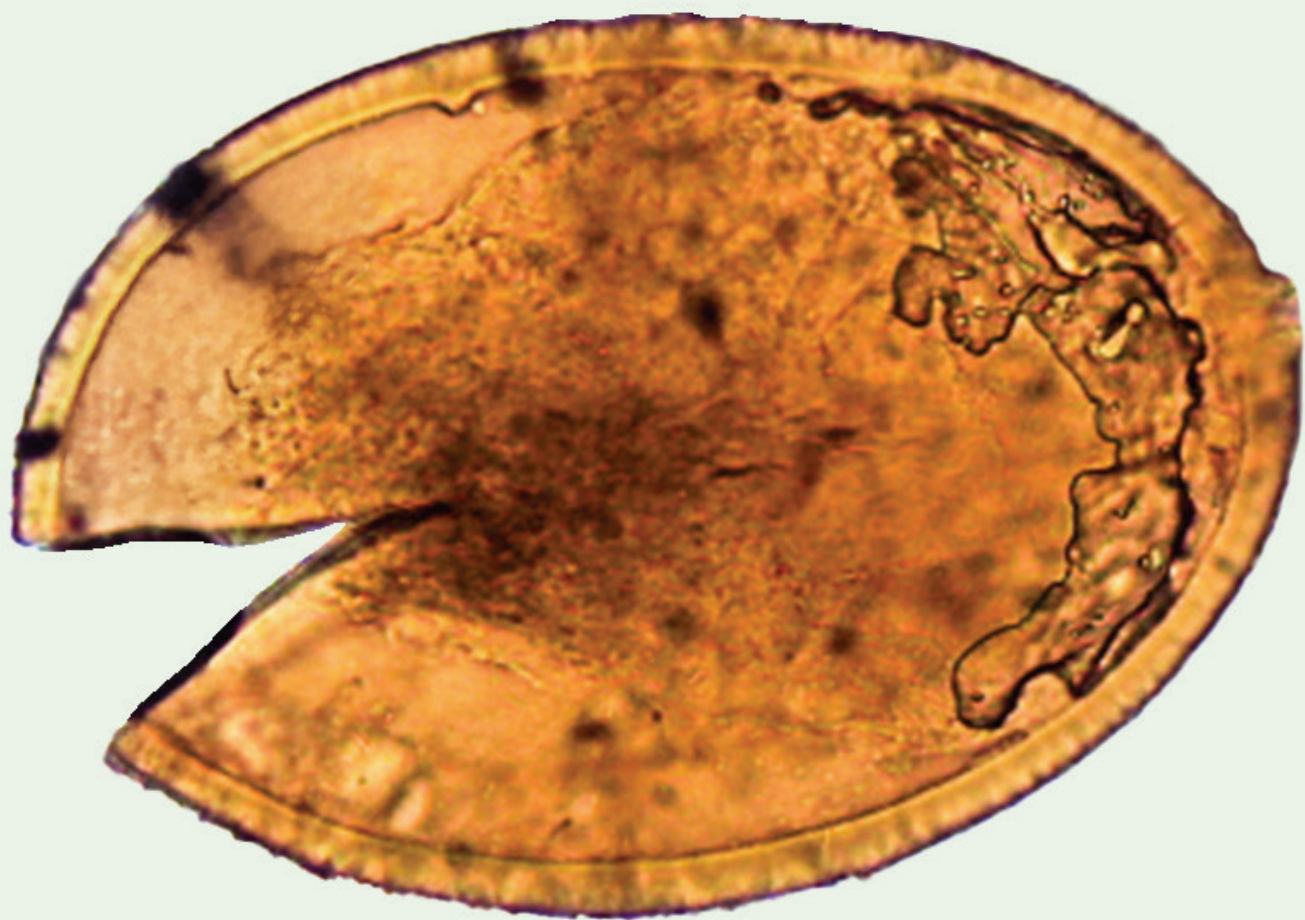
El Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) es un organismo técnico especializado adscrito al Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (MIDAGRI), que desarrolla actividades de investigación, transferencia tecnológica, aprovechamiento y conservación de los recursos genéticos y producción de semillas, plántones y reproductores de elevado valor genético.

El INIA, a través de la Dirección de Supervisión y Monitoreo en las Estaciones Experimentales Agrarias (DSME), viene ejecutando el proyecto de inversión “Mejoramiento de los servicios de investigación y transferencia tecnológica en el manejo y recuperación de suelos agrícolas degradados y aguas para riego en la pequeña y mediana agricultura en los departamentos de Lima, Áncash, San Martín, Cajamarca, Lambayeque, Junín, Ayacucho, Arequipa, Puno y Ucayali”, con CUI N° 2487112, el cual tiene como uno de sus objetivos generar y poner a disposición tecnologías de manejo de suelos, agua de riego para los cultivos agrícolas.

Una práctica recomendada para el manejo de cultivos en suelos con bajo niveles de fertilidad es el uso de micorrizas. Los hongos micorrícicos, a través de la colonización de las raíces de las plantas, aumentan su capacidad de absorción de nutrientes y agua. Además, son capaces de proveer tolerancia a la sequía y salinidad, mejorar la estructura del suelo y remediar suelos contaminados con metales pesados. Por lo tanto, resulta esencial promover su uso, sobre todo en áreas agrícolas con características edáficas inadecuadas.

En este contexto, el presente manual proporciona información sobre las características, beneficios y uso de las micorrizas e incluye procedimientos para su evaluación y producción. Este documento está dirigido a profesionales del sector agropecuario y público en general interesado en implementar prácticas agrícolas más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente.

M. Sc. Jorge Juan Ganoza Roncal
Jefe del INIA



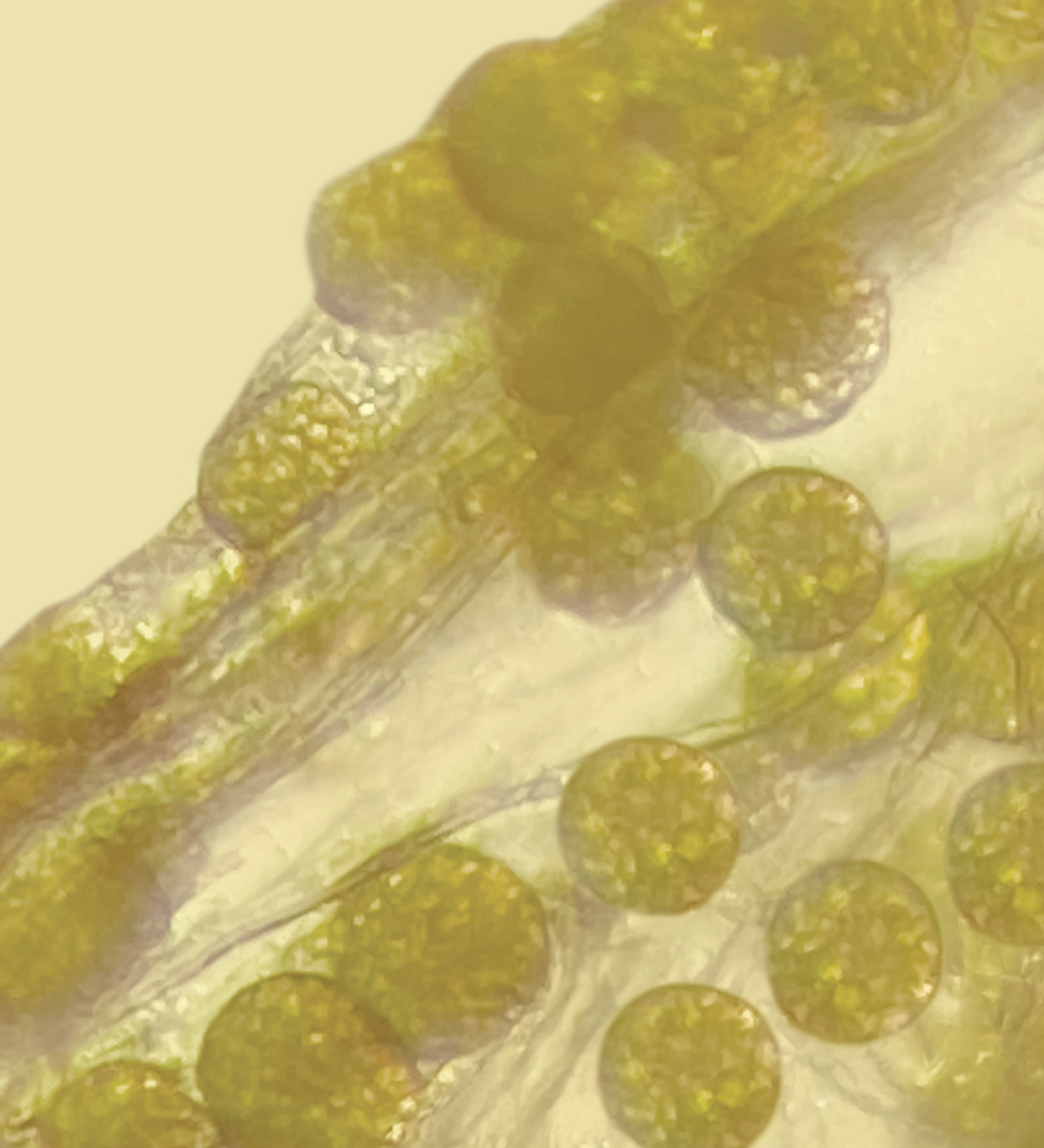
1. Introducción

Los suelos con problemas de acidez, salinidad o sodicidad pueden representar un reto para la producción agrícola. En suelos ácidos, el fósforo tiende a fijarse en formas insolubles debido a la interacción con el aluminio y el hierro (Tsado et al., 2012), mientras que en suelos alcalinos puede reaccionar con el calcio formando compuestos poco solubles, lo que limita la absorción de este nutriente por las plantas (Egwu y Hoseini, 2017). Por otro lado, la alta salinidad y sodicidad de algunos suelos pueden afectar negativamente en sus propiedades físicas y la disponibilidad de otros nutrientes, lo cual dificulta el crecimiento de cultivos (Weil y Brady, 2017). La agricultura bajo estas condiciones requiere del uso de prácticas adecuadas de manejo de suelos.

Las micorrizas son asociaciones naturales entre hongos y plantas que evolucionaron como respuesta a las condiciones adversas de los suelos en los ecosistemas. Esta simbiosis se establece entre el conjunto de hifas fúngicas (micelio) y las raíces de las plantas (Wang et al., 2024). Es así que las micorrizas funcionan como una extensión de las raíces de las plantas, y por su gran capacidad de ramificación exploran el suelo, absorbiendo agua y nutrientes, a los cuales la planta tendría acceso limitado.

Entre los diversos tipos de micorrizas, las arbusculares facilitan la transferencia de nutrientes a las plantas mediante estructuras intracelulares llamadas arbusculos, mientras que la planta provee al hongo fotoasimilados, estableciendo una simbiosis mutualista (Smith y Read, 2008). Asimismo, las micorrizas pueden facilitar la absorción de agua y la tolerancia a la sequía en plantas (Higo et al., 2020). Adicionalmente, mejoran la estructura del suelo y pueden inmovilizar metales pesados tóxicos, reduciendo su biodisponibilidad para plantas y seres humanos (Riaz et al., 2021).

En ese sentido, el presente “Manual de manejo de hongos micorrícicos arbusculares” tiene como objetivo brindar información relevante sobre la importancia de las micorrizas y proponer al usuario una herramienta práctica para su uso eficiente y sostenible.



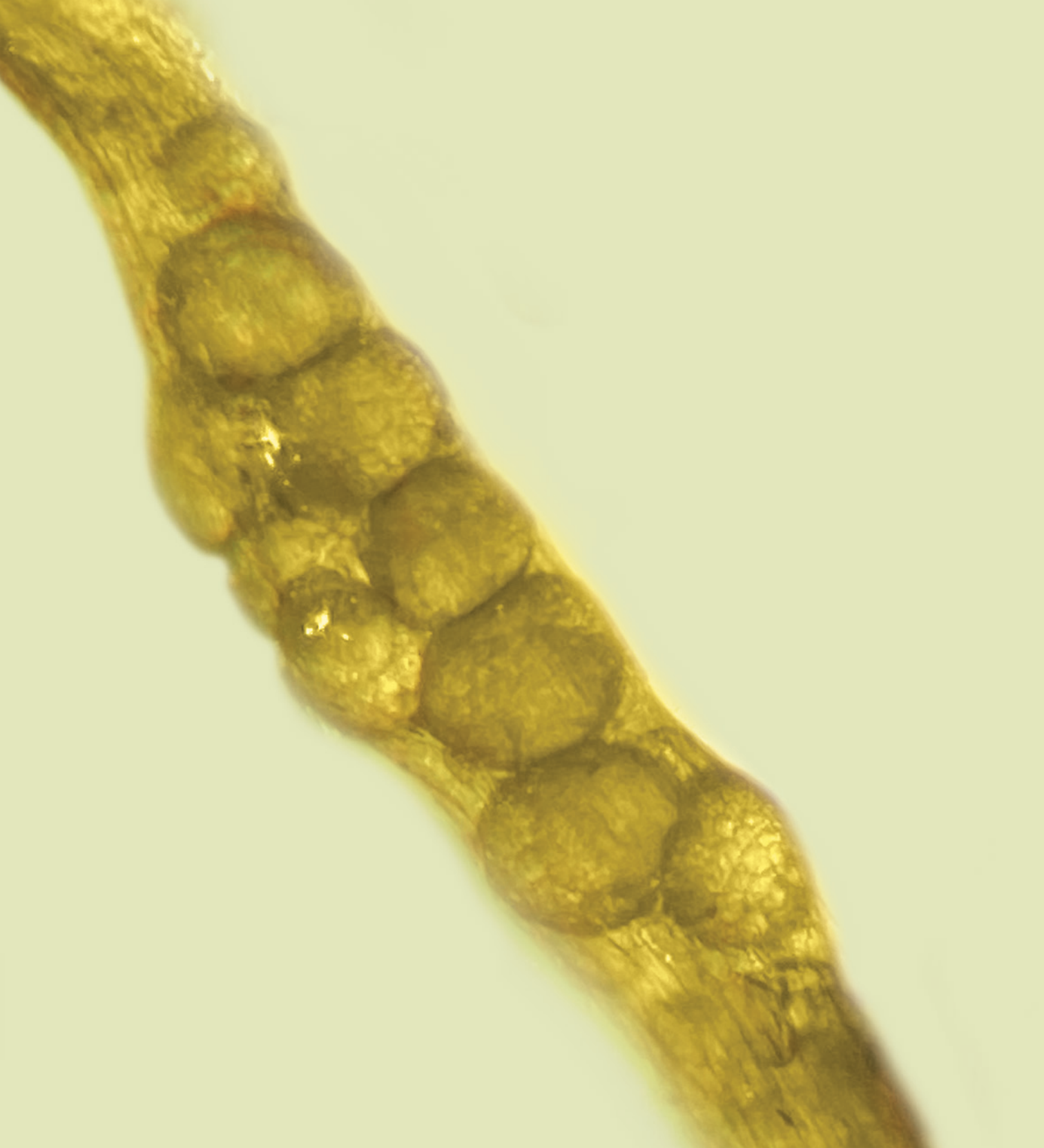
2. Definición y características generales

Las interacciones entre plantas y hongos son muy comunes y abarcan interacciones de diferentes tipos. Entre estas, las interacciones parasitarias resultan en enfermedades como el mildiu y la roya, capaces de ocasionar un daño significativo en las estructuras vegetales. Por el contrario, la simbiosis mutualista beneficiosa establecida entre las raíces de las plantas y los hongos micorrícicos arbusculares resulta beneficiosa para ambos (García - Garrido y Ocampo, 2002). El término micorriza fue usado por primera vez en 1985 por Albert Bernard Frank (Siddiqui et al., 2008 citando a Frank, 1985) para hacer referencia a la simbiosis entre las raíces de las plantas y ciertos hongos del suelo. Actualmente, se utiliza para referirse a la relación simbiótica que estos hongos establecen con las plantas. Las micorrizas promueven el crecimiento de las plantas, confieren a estas protección contra enfermedades y contribuyen a mejorar la calidad del suelo (Siddiqui y Pichtel, 2008). Las asociaciones micorrícicas son muy abundantes en el reino vegetal. Se estima que alrededor del 74 % de todas las especies de plantas forman micorrizas arbusculares, mientras que aproximadamente el 2 % forman ectomicorrizas, el 9 % micorrizas orquidioides y alrededor del 1 % micorrizas ericoides (Brundrett, 2009). Las micorrizas cumplen varias funciones, como la meteorización y disolución de minerales; la movilización de nutrientes; afectan los flujos de carbono del suelo; activan sistemas de respuesta a factores de estrés y permiten posibles interacciones con otros grupos de microorganismos del suelo (Finlay, 2008).

3. Importancia y mecanismos de acción de las micorrizas

La importancia de las micorrizas radica en el rol que desempeñan en la activación de elementos nutritivos, el ciclo de nutrientes, el crecimiento de las plantas y las propiedades físicas y químicas del suelo (He et al., 2020). En este sentido, casi todas las plantas terrestres establecen asociaciones simbióticas con hongos micorrícicos, los cuales regulan los ciclos de nutrientes y carbono, y tienen un impacto directo en la estructura del suelo y la multifuncionalidad del ecosistema. Además, se estima que aproximadamente 50 000 especies de hongos se asocian con alrededor de 250 000 especies de plantas formando micorrizas (van der Heijden et al., 2015).

Según Kraigher et al. (2013) las micorrizas tienen la capacidad de mejorar el crecimiento de las plantas mediante mecanismos morfológicos, fisiológicos y ecológicos. Las micorrizas modifican el crecimiento y la arquitectura de las raíces finas, permitiendo la colonización de mayores volúmenes de suelo y facilitando la exploración de compartimentos más pequeños mediante las hifas. Además, las micorrizas movilizan y liberan nutrientes mediante transportadores específicos y sistemas enzimáticos, almacenan nutrientes, absorben selectivamente metales tóxicos y aumentan la tolerancia a patógenos. Asimismo, producen ácidos orgánicos que modifican el pH del suelo, facilitando la absorción de micronutrientes. Por último, las micorrizas permiten la creación de redes de intercambio de carbono, la redistribución de agua y nutrientes, interactúan con comunidades de animales y microorganismos, y contribuyen a la diversidad del ecosistema.



4. Tipos de micorrizas

La clasificación vigente fue inicialmente propuesta por Harley y Smith en 1983 y fue confirmada por Smith y Read en 1997 (Andrade-Torres, 2010). Esta clasificación distingue siete tipos diferentes de micorrizas, tomando en cuenta tanto sus características estructurales como el grupo taxonómico del hongo o la planta involucrada, así como los cambios morfológicos que experimentan las partes durante la formación de la nueva estructura. Smith y Read (2008) clasificaron las micorrizas en: micorrizas arbusculares, ectomicorrizas, micorrizas ericoides, micorrizas orquidioides y micorrizas micoheterotróficas. En la Tabla 1 se muestra la clasificación de las micorrizas de acuerdo con las características morfológicas del hongo, la forma y el tipo de hifas, el nivel de penetración en la raíz y el tejido cortical, así como los taxones involucrados.

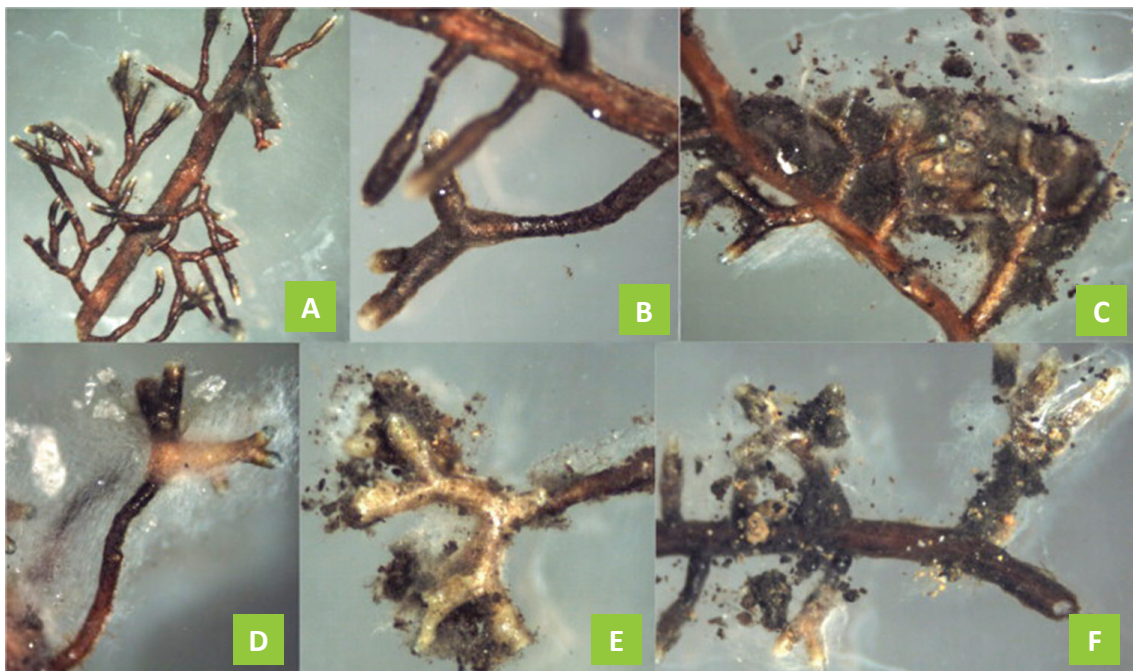
Tipo de micorriza	Taxones fúngicos	Taxones de plantas	Colonización intracelular	Vaina fúngica	Red de Hartig	Vesículas	Aclorofilia
Micorrizas arbusculares	Glomeromycota	Bryophytas Pteridophytas Gymnospermas Angiospermas	Presente	Ausente	Ausente	Presente Ausente	Ausente
Ectomicorrizas	Basidiomycota Ascomycota Zygomycota	Gymnospermas Angiospermas	Ausente	Presente	Presente	Ausente	Ausente
Ectendomicorrizas	Basidiomycota Ascomycota	Gymnospermas Angiospermas	Presente Ausente	Presente Ausente	Presente Ausente	Ausente	Ausente
Micorrizas arbutoides	Basidiomycota	Ericales	Presente	Presente	Presente	Ausente	Ausente
Micorrizas monotropoides	Basidiomycota	Monotropoideae	Presente	Presente	Presente	Ausente	Presente
Micorrizas ericoides	Ascomycota	Ericales Bryophytas	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Presente
Micorrizas orquidioides	Basidiomycota	Orchidaceae	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Presente

Tabla 1. Clasificación de los tipos de micorrizas (adaptado de Siddiqui y Pichtel, 2008)

4.1. Ectomicorrizas

Las ectomicorrizas son una simbiosis entre hongos ectomicorrícicos y las raíces de plantas leñosas, y están ampliamente distribuidos en suelos de los bosques boreales (Rosling et al., 2009). La simbiosis se caracteriza por la formación de un manto fúngico que cubre la raíz, una red de hifas que se introduce entre las células de la epidermis y la corteza (red de Hartig) y un sistema de elementos hifales que crecen hacia el exterior (micelio externo), los cuales forman conexiones con el suelo y los esporocarpos de los hongos (Smith y Read, 2008).

Se estima que en la formación de ectomicorrizas interactúan alrededor de 7 000 a 10 000 especies de hongos, pertenecientes a los phylum Zygomycota, Ascomycota y Basidiomycota y 8 000 especies de plantas, pertenecientes a las familias Pinaceae, Cupressaceae, Juglandaceae, Fagaceae, Betulaceae, Tiliaceae, Salicaceae, Ulmaceae, Rosaceae, Fabaceae, Sapindaceae, Aceraceae, Myrtaceae, Ericaceae y Dipterocarpaceae (Tyub et al., 2016 citando a Harley y Smith, 1983; Newman y Reddell, 1987; Smith y Read, 1997; Brundrett, 2009). La Figura 1 presenta diversas estructuras encontradas en las interacciones simbióticas entre raíces de *Pinus montezumae* con hongos del banco de esporas de la Faja Volcánica Transmexicana.



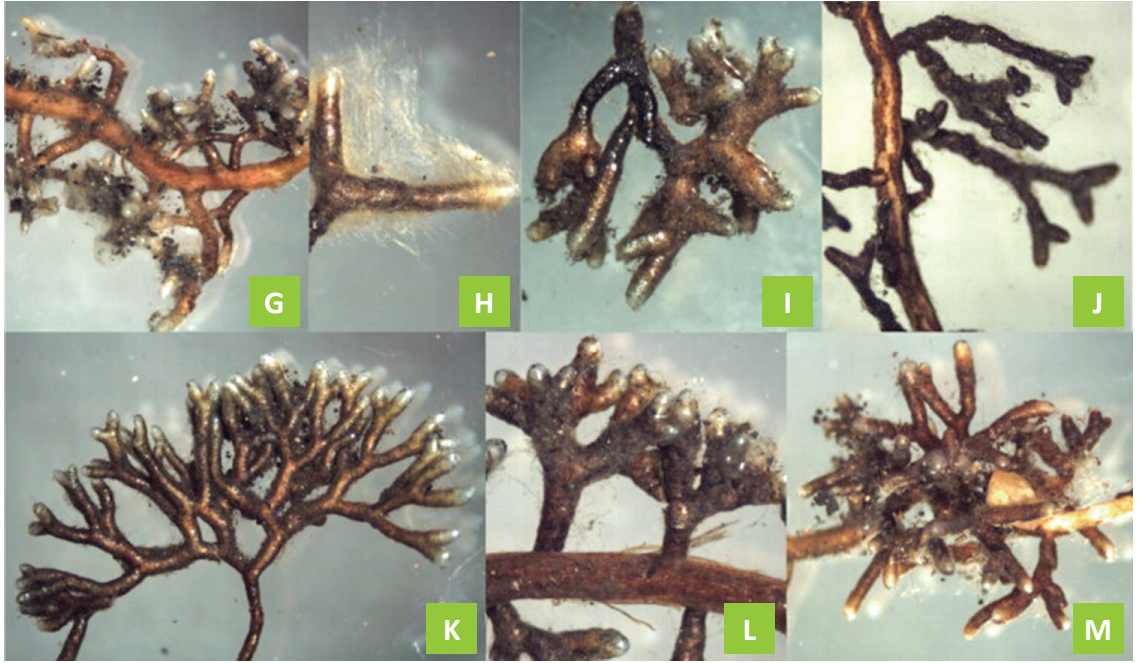


Figura 1. Morfotipos de ectomicorrizas. A) Ectomicorriza en *C. finlandica*; B) ectomicorriza con *Geopora* sp; C) ectomicorriza con *H. albocolosum*; D) punta micorrizada con *H. albocolosum*; E) ectomicorriza con *H. helodes*; F) ectomicorriza con *H. leucosarx*; G) ectomicorriza con *H. mesophaeum*; H) punta micorrizada con *H. mesophaeum*; I) ectomicorriza con *Peziza* sp.; J) ectomicorriza con *Peziza* aff. *Ostracoderma*; K) ectomicorriza con *Pezizaceae* sp.; L) punta micorrizada con *Pezizaceae* sp1.; M) ectomicorriza con *Pezizaceae* sp2. (adaptado de Garibay - Orijel et al. 2013)

4.2. Ectendomicorizas

Esta simbiosis ocurre principalmente entre hongos de los phylum Basidiomycota y Ascomycota, y coníferas del género *Pinus*, aunque también se ha observado en algunas angiospermas. Este tipo de micorriza combina características de las ectomicorizas y de las endomicorizas, pudiéndose observar la formación de la red de Hartig y un cierto grado de penetración intracelular. Las especies más conocidas de hongos asociados son *Wilcoxina mikolae* y *W. rehmlii* (Yu et al., 2001).

4.3. Micorizas arbutoides

Las micorizas arbutoides son muy similares a las ectendomicorizas. Sin embargo, las diferencias de estructura y los taxones de hongos implicados en su formación justifican su categorización como un grupo diferente. Estas micorizas presentan manto, hifas externas, y una red de Hartig bien desarrollada, junto con abundantes hifas intracelulares (a menudo espiraladas) en las células vegetales. Están presentes en la familia Ericaceae, particularmente en los géneros *Arbutus* spp. y *Arctostaphylos* spp., así como en diversos géneros de la subfamilia Pyrolae (Smith y Read, 2008).

4.4. Micorizas ericoides

Las micorizas ericoides se forman entre un grupo restringido de hongos asociados a una diversidad limitada de especies vegetales en las familias Ericaceae, Epacridaceae y Empetraceae (Dighton, 2009). Este tipo de simbiosis es común en ecosistemas con climas fríos y húmedos; en los que los suelos son ácidos, turbosos, pobres en nutrientes y con una muy baja fijación biológica de nitrógeno (Smith y Read, 2008). De manera similar a las micorizas arbusculares, las hifas del hongo invaden las células corticales, generalmente de raíces muy finas, en las que forman bobinas hifales en lugar de arbuscúlos (Dighton, 2009).

4.5. Micorizas orquidioides

Las micorizas orquidioides se forman entre hongos basidiomicetos y las raíces de las orquídeas. Las plantas son muy dependientes del hongo, debido a que este estimula la germinación de sus semillas y el crecimiento inicial de la plántula (Andrade-Torres, 2010). En particular, las semillas de las orquídeas debido a su tamaño pequeño y embrión poco desarrollado, deben ser colonizadas por las hifas micorrícicas para absorber los nutrientes necesarios para su

germinación y empezar su desarrollo primario como plántula (Leake, 1994; Smith y Read, 2008; Urcelay et al., 2005). Además, durante las primeras etapas de desarrollo, las orquídeas carecen de clorofila (aclorófilas), por lo que son saprobias (Andrade-Torres, 2010).

4.6. Micorrizas monotropoides

Las micorrizas monotropoides son las que se forman por la simbiosis entre plantas de la subfamilia Monotropoideae, pertenecientes a la familia de las Ericaceae y hongos de los géneros *Lactarius*, *Rhizopogon*, *Russula* y *Tricholoma*; estas micorrizas presentan características de las ectomicorrizas, como un manto que envuelve las raíces y la formación de redes de Hartig entre las células del córtex de las raíces; asimismo, las hifas fúngicas penetran las células epidérmicas de las raíces, dando lugar a estructuras conocidas como pegs fúngicos, que son distintivas de las micorrizas monotropoides (Figura 2). Estos pegs se encargan de la transferencia de compuestos de carbono fotosintéticos desde el hongo hacia las plantas no fotosintéticas (Lee y Eom, 2014).

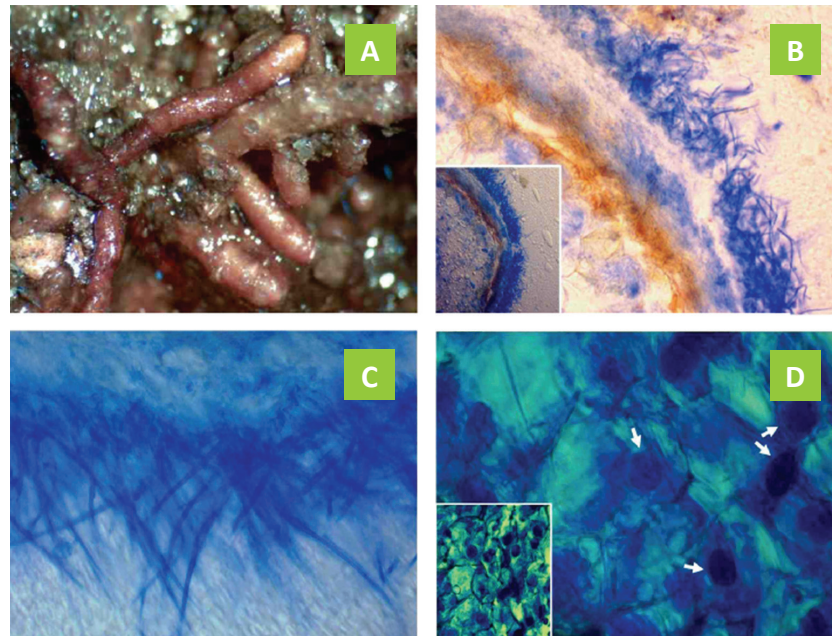


Figura 2. Estructura de las micorrizas monotropoides. A) Puntas radiculares fúngicas de *M. uniflora*; B) estructura gruesa del manto de la punta radicular; C) numerosos cystidios en la superficie de la raíz; D) peg fúngico (flechas). Barras de escala: 10 μm (Lee y Eom, 2014)

4.7. Micorrizas arbusculares

Las micorrizas arbusculares son una simbiosis que se da entre las raíces de una gran variedad de plantas hospederas y ciertos hongos pertenecientes al phylum Glomeromycota conocidos como hongos micorrízicos arbusculares (HMA) (Smith y Read, 2008). Esta simbiosis permite el beneficio mutuo de plantas y hongos mediante un intercambio recíproco de minerales y recursos orgánicos que mejoran el estatus nutricional de ambas partes y pueden extenderse más allá de la zona de raíces (Figura 3) (Parra-Rivero et al., 2018). Las micorrizas arbusculares se caracterizan por que forman unas estructuras típicas conocidas como arbuscúlos dentro de las células corticales de las raíces de las plantas (Smith y Read, 2008). Además de los arbuscúlos también pueden formar vesículas de almacenamiento, hifas inter e intracelulares, y esporas que se desarrollan tanto dentro como fuera de las raíces (Saparrat et al., 2020; Smith y Read, 2008).

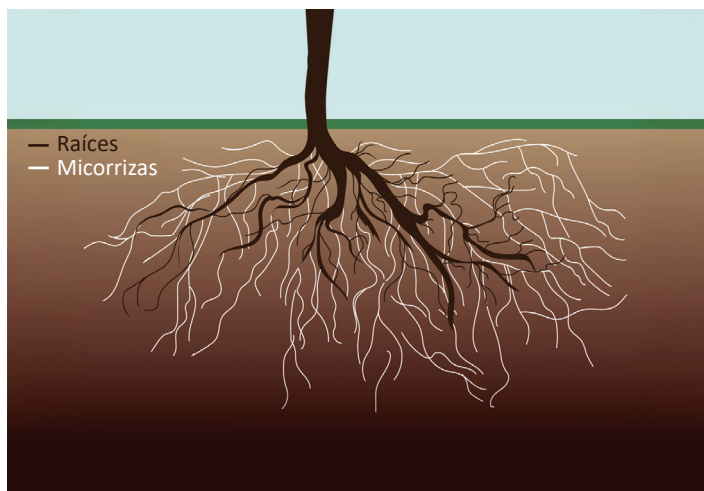


Figura 3. Ilustración del sistema de raíces y la formación de la red de micelio de los hongos micorrízicos arbusculares

Este tipo de micorrizas se pueden encontrar en una amplia variedad de cultivos agrícolas, muchos arbustos, varias especies de árboles tropicales y algunas especies de árboles de zonas templadas. También, se pueden encontrar en gimnospermas, pteridofitas, briofitas y en ciertas plantas acuáticas. Sin embargo, las plantas pertenecientes a las familias Betulaceae, Commelinaceae, Ericaceae, Fumariaceae y Orchidaceae no forman micorrizas arbusculares, o lo hacen de manera muy rara (Kumar et al., 2012).

La simbiosis radicular con hongos micorrícicos arbusculares (HMA) comienza con la formación del apresorio, el cual es una estructura hifal diferenciada que se adhiere a la epidermis de la raíz de la planta huésped, iniciando así la colonización (Saparrat et al., 2020). La penetración de la raíz ocurre por medio del apresorio, en donde el hongo micorrícico se introduce formando un camino entre dos células epidérmicas; simultáneamente al crecimiento intra o intercelular de la hifa del hongo micorrícico, la hifa terminal se diferencia en arbuscúlos en algunas células corticales (Figura 4); los arbuscúlos no atraviesan la membrana celular de la célula, sino que la membrana invagina a los arbuscúlos, formando un compartimento llamado interfase arbuscular o interfase simbiótica, en donde se da el intercambio de nutrientes (Guzmán-González y Farías-Larios, 2005 citando a Harrison, 1997). La formación de los arbuscúlos es el primer indicio de una colonización funcional porque aumenta la actividad metabólica del huésped; dada esta asociación, el hongo comienza a extenderse a las raíces, rizósfera y suelo (Saparrat et al., 2020).

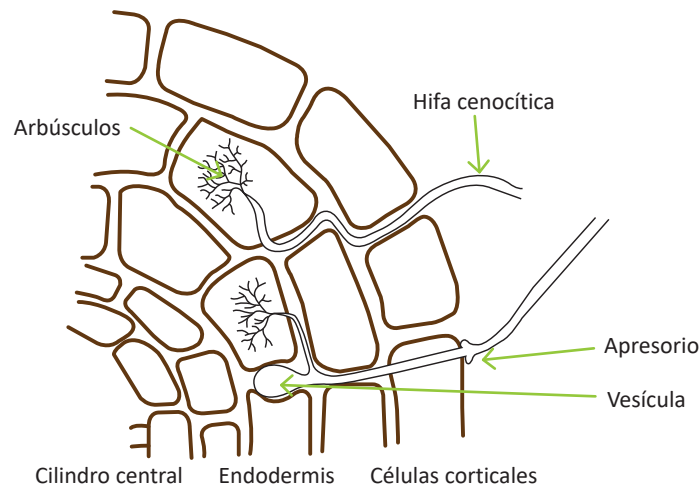


Figura 4. Estructuras de un hongo micorrícico arbuscular asociado a una raíz

Entre las principales funciones de los HMAs se encuentra la absorción y transferencia de nutrientes (Smith y Read, 2008), la producción y regulación de ciertas hormonas vegetales; la resistencia a patógenos, la interacción con otros microorganismos del suelo, la tolerancia a condiciones de estrés y la absorción y tolerancia (de las plantas micorrizadas) a ciertas concentraciones de metales pesados (Jansa y Gryndler, 2010; Pozo et al., 2010; Ruiz-Lozano y Aroca, 2010; Turnau et al., 2010).

A continuación, se describen algunas de las funciones de los HMAs:

- **Transferencia de nutrientes:** el intercambio de nutrientes es una característica central de las micorrizas arbusculares, donde los hongos simbioses obtienen carbono de la planta en forma de carbohidratos y ácidos grasos y, a cambio, las plantas se benefician por la absorción de fósforo y nitrógeno (Saparrat et al., 2020; Thirkell et al., 2020; Wang et al., 2017). La Figura 5 muestra las vías directa y micorrícica implicadas en la absorción de fósforo inorgánico (Pi), N e iones durante la simbiosis con hongos micorrícicos arbusculares (HMA). La vía directa se realiza en la interfaz suelo-raíz, donde las plantas absorben nutrientes directamente del suelo. En contraste, la vía micorrícica utiliza el micelio extraradical (ERM) para captar Pi mediante transportadores específicos de fosfato fúngico. Además, el ERM absorbe amonio (NH_4^+) y/o nitrato (NO_3^-), que son asimilados inicialmente en glutamina (Gln) y posteriormente en arginina (Arg). Este proceso de asimilación genera un desequilibrio de protones (H^+) o hidroxilos (OH^-) según el nutriente nitrogenado involucrado. El fosfato es transportado principalmente en forma de gránulos de polifosfato, cuya carga negativa facilita el transporte simultáneo de arginina e iones metálicos desde las hifas extraradicales hacia las intraradicales. Sin embargo, los mecanismos específicos responsables del eflujo de Pi y NH_4^+ desde el micelio intraradical (IRM) al apoplasto interfacial aún no se han esclarecido (Wang et al., 2017).

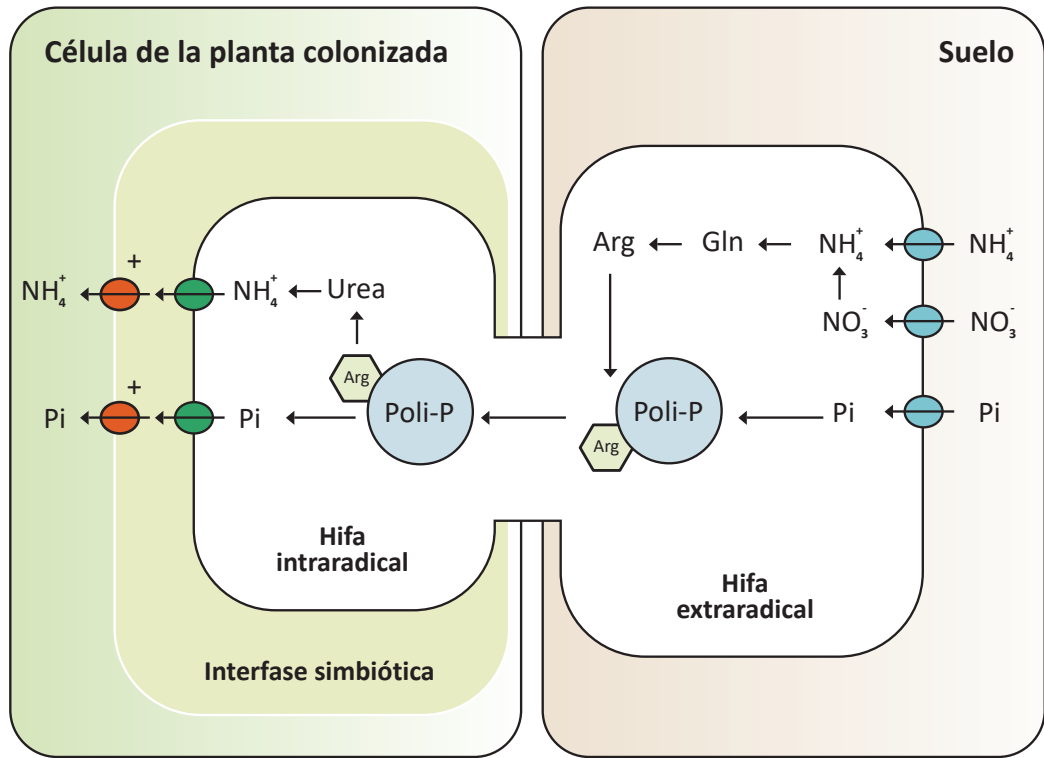


Figura 5. Ilustración esquemática de un modelo de intercambio de fosfato y compuestos de carbono en la interfase simbiótica de las micorrizas arbusculares (adaptado de Wang et al., 2017)

- **Control de enfermedades:** La colonización de la raíz por HMA generalmente reduce la gravedad de las enfermedades causadas por los patógenos. La reducción de los daños puede deberse a cambios en el crecimiento y la morfología de las raíces, cambios histopatológicos de las raíces, cambios fisiológicos y bioquímicos dentro de la planta, cambios en la nutrición de la planta huésped, modificación de las poblaciones microbianas del suelo, competencia por sitios de colonización y fotosintatos, activación de mecanismos de defensa y parasitismo de nematodos por HMA (Siddiqui et al., 2008).
- **Tolerancia a estrés causados por metales pesados:** el comportamiento de los HMAs respecto a la absorción y transporte de metales pesados es variable, en algunos casos las plantas micorrizadas tienen una mayor absorción y translocación de metales pesados mientras que en otros casos los metales pesados quedan inmovilizados en el suelo. El resultado de la colonización micorrízica en la remediación de suelos contaminados depende de la combinación planta - hongo - metal pesado y es influenciada por las condiciones fisicoquímicas del suelo. Sin embargo, en muchos casos los HMA funcionan como una barrera (Siddiqui et al., 2008).
- **Mejora de la producción:** la simbiosis micorrízica ha demostrado que puede beneficiar el crecimiento de muchos cultivos agrícolas, en gran medida debido a la red de hifas que se desarrollan en el suelo, una mejor explotación de los nutrientes y una mejor absorción de los mismos (Smith y Read, 2008).
- **Restauración de ecosistemas nativos:** el uso de los HMAs puede ser una estrategia para permitir la restauración de ecosistemas dado que las plantas micorrizadas tienen mejor capacidad para establecerse, tolerar y afrontar condiciones de estrés como la deficiencia de nutrientes, sequía y alteración del suelo (Siddiqui et al., 2008, citando a Barea et al., 1997). Adicionalmente, el micelio de los hongos (Figura 6), permite que haya una mejor agregación de las partículas de suelo y permiten el reciclaje de nutrientes (Siddiqui et al., 2008).



Figura 6. Desarrollo de micelio fúngico sobre materia orgánica en descomposición en un ecosistema de bosque secundario

Los hongos micorrízicos arbusculares pertenecen a un grupo de hongos dentro del phylum Glomeromycota aunque su clasificación dentro de este phylum aún se encuentra en constante cambio y debate (Tederso et al., 2018). Estudios como el de Oehl et al. (2011) los agrupan en tres clases dentro de este filo, con aproximadamente 200 especies descritas.

La clasificación taxonómica de los hongos micorrícicos arbusculares propuesta por diversos autores (Oehl et al., 2011; Oehl y Sieverding, 2004; Schüßler y Walker, 2010; Sieverding y Oehl, 2006) es la siguiente:

Phylum Glomeromycota

Subphylum Glomeromycotina

Clase Glomeromycetes

Orden Glomerales

- Familia Glomeraceae
- Familia Claroideglomeraceae

Orden Diversisporales

- Familia Diversisporaceae
- Familia Acaulosporaceae
- Familia Entrophosporaceae
- Familia Pacisporaceae

Orden Gigasporales

- Familia Gigasporaceae
- Familia Scutellosporaceae
- Familia Racocetraceae
- Familia Dentiscutataceae

Clase Paraglomeromycetes

Orden Paraglomerales

- Familia Paraglomeraceae

Clase Archaeosporomycetes

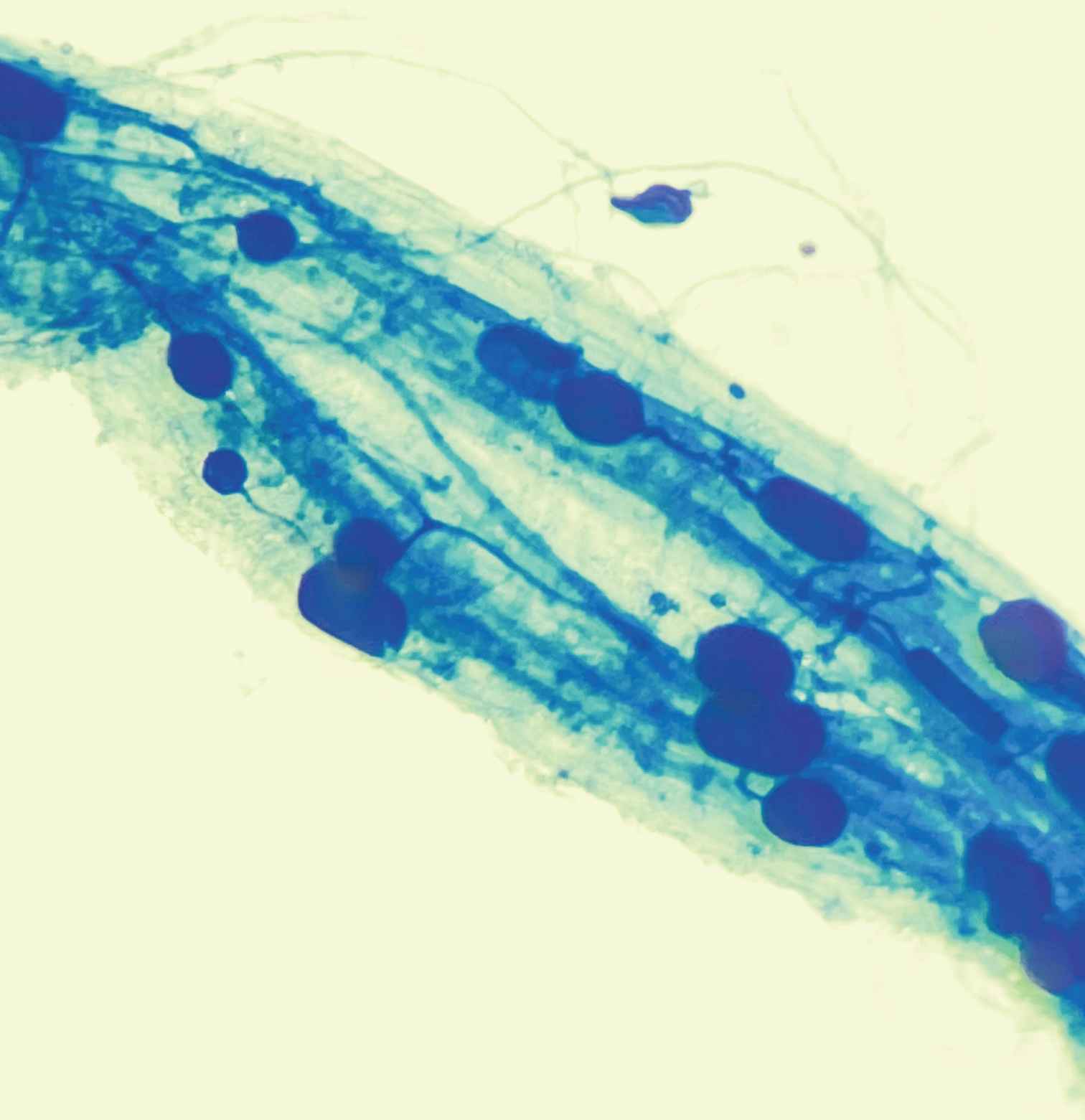
Orden Archaeosporales

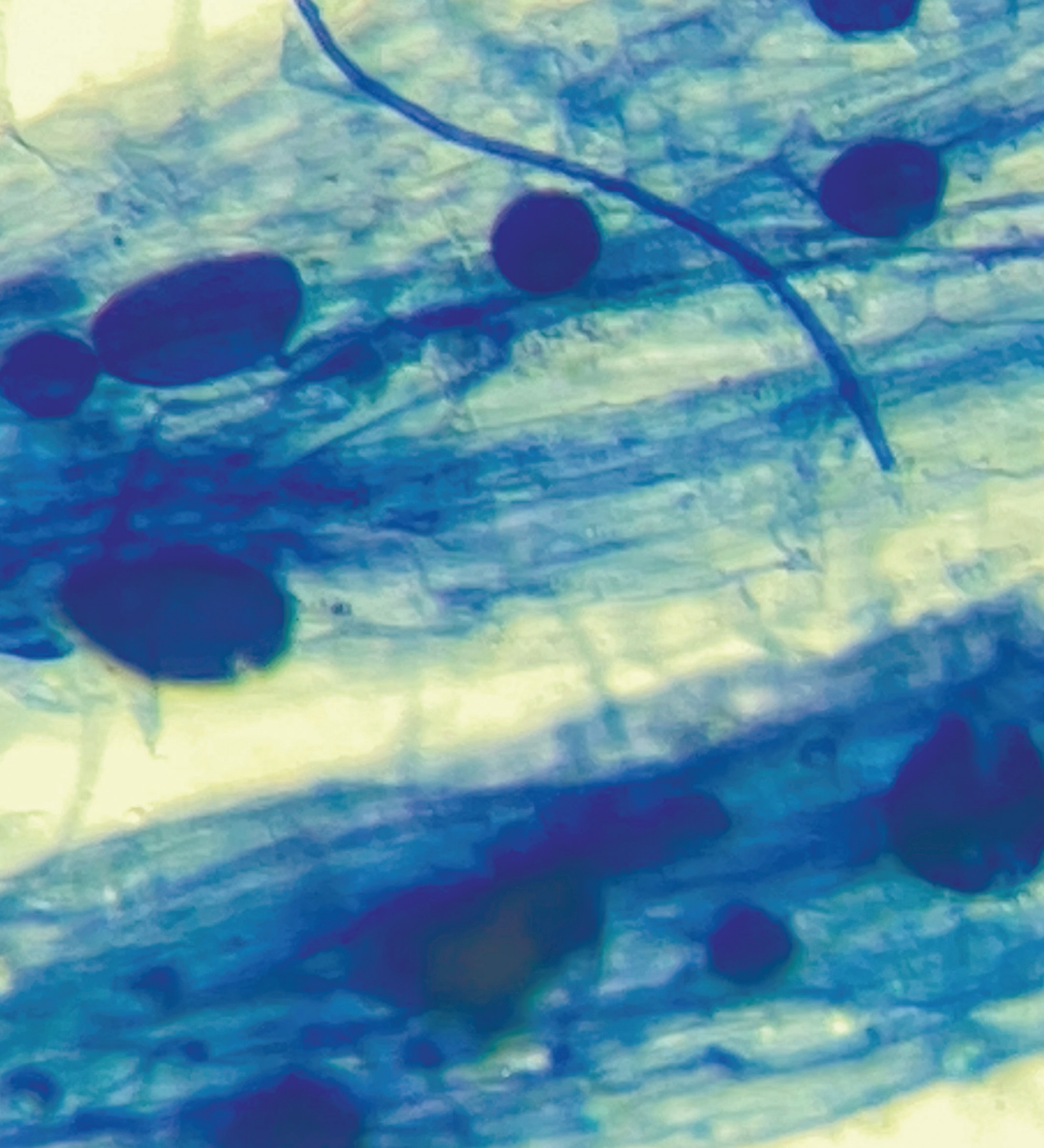
- Familia Archaeosporaceae
- Familia Ambisporaceae
- Familia Geosiphonaceae

A continuación, se describen los principales géneros de hongos micorrícicos arbusculares:

- **Glomus:** está conformado por alrededor de 85 especies. Se caracteriza porque las esporas se producen sobre una hifa de sostén, pueden ser solitarias, en agregados laxos o en esporocarpos. Las esporas son glomoides, tienen una pared con varias capas, originadas a partir de la hifa esporogénica, la que usualmente queda unida a la espora madura. Se encuentran en la parte superficial o cerca de la superficie del suelo (Bagyaraj y Stürmer, 2012; Redecker y Raab, 2006; Schüßler y Walker, 2010).
- **Gigaspora:** está conformado por cinco especies. Las esporas son formadas en una célula esporogénica bulbosa que germinan a través de la pared de la espora, después de la formación de una capa papilada, en la parte interna de la pared de la espora. No forman vesículas, el micelio intraradical usualmente es enrollado y el micelio extraradical posee células auxiliares (Bagyaraj y Stürmer, 2012; Redecker y Raab, 2006).
- **Scutellospora:** está conformado por alrededor de 30 especies. La formación de las esporas y las hifas son muy similares a las de *Gigaspora*. Sin embargo, este género se caracteriza porque las paredes internas de las esporas son flexibles y se mantienen así en las esporas maduras (Bagyaraj y Stürmer, 2012; Redecker y Raab, 2006).
- **Acaulospora:** este género está conformado por alrededor de 31 especies. Se caracteriza por la posición del sáculo esporífero producido lateralmente. Las esporas se caracterizan porque tienen paredes internas flexibles y se forman en un sáculo esporífero, que deja una cicatriz en la superficie de la espora. Durante la germinación de las esporas se produce una estructura membranacea en la parte interior de las paredes de la espora conocida como orbe germinativo (Bagyaraj y Stürmer, 2012; Redecker y Raab, 2006). Las vesículas difieren en forma, algunas con protuberancias y otras con concavidades. Las hifas intraradicales son rectas o enrolladas cerca de los puntos de entrada. La micorriza se tiñe débilmente (Bagyaraj y Stürmer, 2012).
- **Entrophospora:** el género *Entrophospora* incluye cinco especies. morfológicamente es muy similar a *Acaulospora*. Se caracteriza porque el sáculo esporífero está formado dentro de la hifa subtendida y porque las esporas poseen dos cicatrices en la superficie de la pared (Bagyaraj y Stürmer, 2012).

- ***Pacispora***: está conformado por siete especies. En este género las esporas son formadas de la misma manera que *Glomus*. Su pared externa y germinal están formadas por tres capas, la segunda capa de la pared germinal reacciona al reactivo de Melzer, la pared germinal tiene paredes internas flexibles. Además, *Pacispora* forma orbe de germinación (Bagyaraj y Stürmer, 2012; Redecker y Raab, 2006).
- ***Glomus-Grupo C***: las especies de este género se agruparon en base a análisis filogenéticos de ADN ribosomal, en el que se determinó que *Glomus-Grupo C* está más emparentado con la familia Acaulosporaceae que con la familia Glomeraceae. Este género incluye especies como *Diversispora spurca* (Redecker y Raab, 2006).
- ***Archaeospora***: forma esporas terminales sobre una hifa de sostén o como una ramificación similar a la estructura de un sáculo esporífero. Son dimórficas, tomando formas acaulosporoides o glomoides. Los arbuscúlos e hifas intraradicales se tiñen débilmente. Las vesículas y células auxiliares no están diferenciadas. La pared de la espora está formada por tres o cuatro capas y no se forma una verdadera bicapa germinal (Bagyaraj y Stürmer, 2012).
- ***Geosiphon***: está conformado por un único miembro llamado *Geosiphon pyriformis*. Además, este hongo forma una simbiosis muy particular, pues es el único que se asocia con una cianobacteria (Redecker y Raab, 2006).
- ***Paraglomus***: incluye dos especies conocidas, estas son *P. occultum* y *P. baccatum* (Bagyaraj y Stürmer, 2012). Las esporas se forman de manera similar a las del género *Glomus*; son pequeñas y hialinas, y bajo un microscopio óptico no se pueden diferenciar de las esporas de *Glomus*. Sin embargo, *Paraglomus* a diferencia de *Glomus* se caracteriza por que las estructuras intraradicales, al ser sometidas a procesos de tinción usando colorantes ácidos no se tiñen o se tiñen débilmente (Redecker y Raab, 2006).





5. Métodos para la evaluación de hongos micorrícicos arbusculares

5.1. Muestreo rizosférico para la evaluación de hongos micorrícicos arbusculares

La toma de raíces es el paso inicial para la evaluación de HMA por lo que es de crucial importancia para varios tipos de análisis relacionados a la evaluación de HMA. La herramienta más común para realizar este muestreo es una pala recta. Las muestras de suelo de campo deben tomarse de la rizosfera (suelo de la zona radicular de una planta) a una profundidad del suelo donde ocurre la mayor proliferación de raíces, ubicada generalmente entre 0 y 20 cm de profundidad. El suelo rizosférico está compuesto de suelo, fragmentos de raíces secas, esporas de HMA, esporocarpos y fragmentos de hifas (Habte y Osorio, 2001).

El método más usado para la tinción de raíces y la observación de HMAs es el que describen Phillips y Hayman (1970). Sin embargo, este utiliza una serie de sustancias tóxicas, por lo que diferentes modificaciones han sido propuestas. Koske y Gemma (1989) modificaron este método de tinción eliminando varios reactivos tóxicos como el fenol, la formalina, el ácido acético y otros, reduciendo considerablemente los riesgos asociados y permitiendo una adecuada tinción en las raíces de diversas plantas, incluyendo angiospermas como el tomate y la fresa (Figura 7), así como helechos, licopodios, psilofitas y briofitas. El procedimiento de Koske y Gemma (1989) se describe a continuación:

- Tomar una muestra de la planta a analizar, teniendo cuidado de no dañar las raíces de la planta. Lavar las raíces con agua corriente cuidadosamente para retirar los restos de suelo o sustrato que puedan contener.
- Separar las raíces de la parte aérea y seleccionar las raíces más jóvenes, finas y menos pigmentadas que se puedan obtener de la muestra.

- Opcional: Si las raíces no serán evaluadas inmediatamente, pueden ser conservadas en solución de etanol al 50 % o alcohol isopropílico.
- Colocar 3 g de raíces frescas o conservadas en un tubo de vidrio, agregar 40 ml de KOH al 2.5 % (p/v). Otras concentraciones de KOH (2 - 10 %) también pueden ser usadas dependiendo del grosor y pigmentación de las raíces.
- Esterilizar los tubos con las raíces y el KOH en la autoclave a 121 °C por 3 minutos o calentar en baño maría a 90 °C durante 10 a 30 minutos. Es importante mantener una buena ventilación durante este paso dado que los vapores del KOH son cáusticos. La sensibilidad de las raíces al KOH varía entre especies y es afectada por la concentración de la solución de KOH, la temperatura y tiempo del tratamiento térmico y el grosor de las raíces.
- Descartar la solución de KOH y enjuagar las raíces con agua varias veces (generalmente 4 o 5 enjuagues son suficientes).
- Opcional: Agregar una solución de peróxido de hidrógeno alcalinizada (3 ml de NH_4OH al 20 % en 30 ml H_2O_2 al 3 %) y dejar actuar por 10 a 45 minutos. También se puede utilizar una solución de hipoclorito de sodio al 0.525 %. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que el uso de esta solución reduce la intensidad de tinción. Descartar la solución de peróxido o hipoclorito y enjuagar las raíces con agua.
- Agregar 40 o 50 ml de una solución de HCl al 1 %. El volumen de HCl usado debe ser de alrededor de 20 o 50 veces el volumen de las raíces. Dejar actuar la solución de HCl durante la noche (12 horas).
- Descartar la solución de HCl y agregar una solución de azul de tripano 0.05 % en glicerol acidificado (500 ml de glicerol, 450 ml de H_2O y 50 ml de HCl al 1 %).
- Esterilizar las muestras en el autoclave 121 °C por 3 minutos o colocar en baño María a 90°C por 15 a 60 minutos.
- Descartar la solución de azul de tripano y agregar una solución de glicerol acidificado. Para la mayoría de los casos este paso se realiza a temperatura ambiente. Sin embargo, para aquellas raíces que retienen el colorante excesivamente es recomendable colocar la muestra en baño maría hasta calentar la muestra.

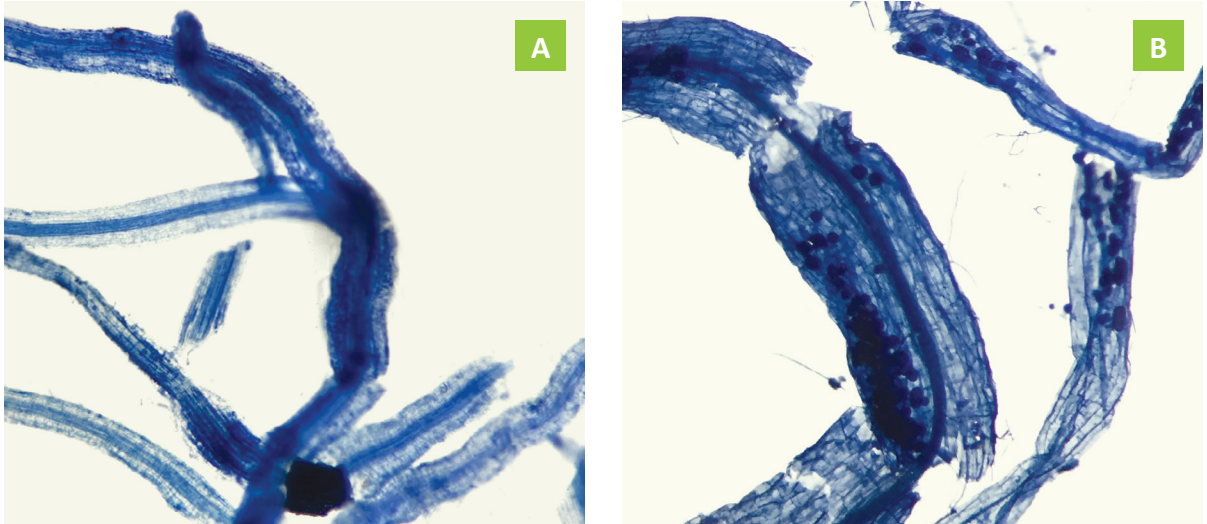


Figura 7. Raíces teñidas utilizando el método de Koske y Gemma (1989).
(A) Raíces de fresa sin micorrización (B) Raíces de tomate micorrizadas

5.2. Medición de la colonización de raíces

Existen diferentes métodos para la medición de la colonización de raíces por HMAs. Uno de estos implica el conteo de las intersecciones de líneas de cuadrícula, descrito por Giovannetti y Mosse, (1980). A continuación, se describirá el mencionado método adaptado por Bagyaraj y Stürmer (2012) (Figura 8):

- Cuadricular la base externa de una placa Petri con cuadrículas de 1.1 x 1.1 cm de longitud.
- Extender las raíces teñidas sobre la placa Petri cuadriculada.
- Colocar la placa bajo la lente de un estereoscopio (40 X) explorando las líneas horizontales y verticales.
- Registrar el número de intersecciones entre las líneas de las cuadrículas y las raíces y el número de intersecciones entre las líneas de la cuadrícula y las raíces micorrizadas.
- Calcular el porcentaje de colonización micorrízica (% CM) utilizando la fórmula.

$$\% CM = \left(\frac{IRM}{IRT} \right) \times 100 \%$$

Donde:

IRM: Número total de intersecciones entre las líneas de la cuadrícula y las raíces micorrizadas.

IRT: Número total de intersecciones entre las líneas de la cuadrícula y el total de raíces.

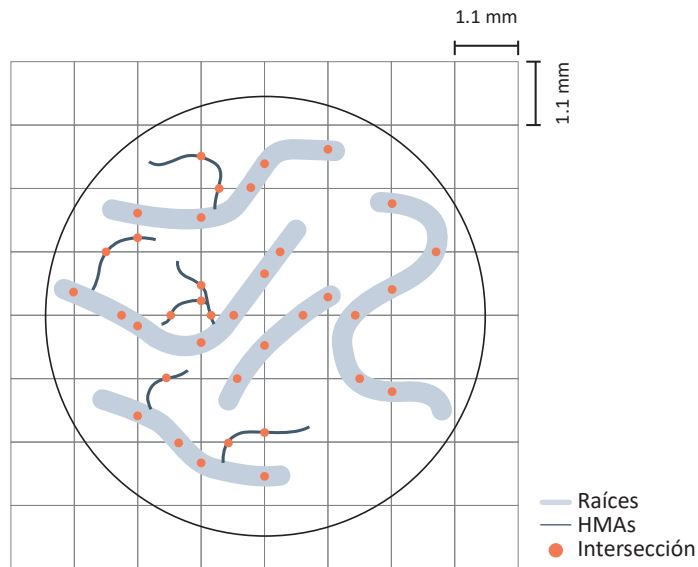


Figura 8. Esquema de una placa Petri con raíces teñidas para calcular la micorrización por el método de intersección de línea

En la Figura 8 se representa una placa Petri sobre la cual se han montado raíces teñidas para determinar el porcentaje de colonización. Como se puede observar hay un total de 35 intersecciones entre las líneas de las cuadrículas y el total de raíces (15 intersecciones verticales y 20 intersecciones horizontales). Además, se pueden observar que hay 24 intersecciones entre las líneas de las cuadrículas y las raíces micorrizadas. Por lo tanto, el porcentaje de colonización en esta muestra de raíces sería de 68.6 %.

5.3. Extracción de esporas de hongos micorrícicos arbusculares del suelo

Las esporas de los HMAs son las unidades reproductivas que permiten a estos hongos establecer nuevas asociaciones micorrícicas con las plantas hospederas y desempeñan un papel crucial en la propagación. En la Figura 9 se muestra una espora de HMA.

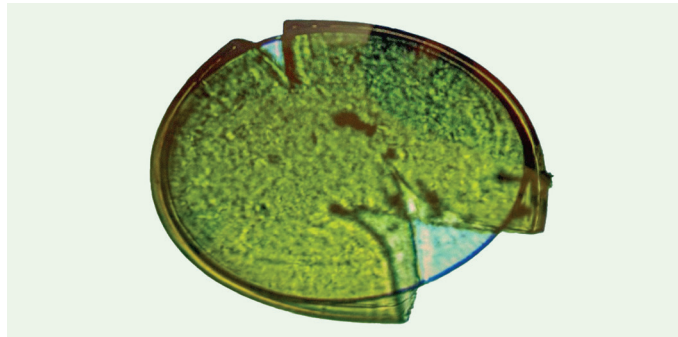


Figura 9. Microfotografía 40X de una espora de HMA

El método base utilizado para la extracción de esporas de HMAs es el que describen (Gerdemann y Nicolson (1963). En Algunas modificaciones a este método fueron realizadas por Bagyaraj y Stürmer (2012). Para la extracción de esporas de HMA se usará el método desarrollado por Gerdemann y Nicolson (1963) y adaptado por Bagyaraj y Stürmer (2012).

- Tomar 100 g de la muestra rizosférica de suelo y colocarla en un envase con tapa o vaso de precipitado.
- Agregar 500 mL de agua y agitar con una baqueta, hasta disgregar las partículas de suelo, dejar reposar 30 segundos.
- Pasar la suspensión (sobrenadante) a través de dos tamices anidados con abertura de malla de 710 μm y 45 μm . Colocar el material retenido en el tamiz de 710 μm en una placa Petri y observar bajo el estereoscopio para observar esporas.
- Trasvasar el material retenido en el tamiz de 45 μm a un vaso de precipitado y luego resuspender este material, colocándolo en un tubo de centrífuga que contenga un gradiente de sacarosa de 20 - 60 %.

- Centrifugar los tubos a 2000 rpm durante 60 segundos.
- Vaciar el sobrenadante en el tamiz de 45 μm y lavar con agua corriente para quitar el exceso de sacarosa.
- Transferir el material retenido en el tamiz de 45 μm a una placa Petri y bajo el microscopio recolectar las esporas en una luna de reloj con ayuda de una aguja KÖlle.

5.4. Evaluación de propágulos infectivos

Este método se basa en una serie de diluciones decimales de suelo en donde la presencia o ausencia de colonización micorrícica se registra y da como resultado el número más probable de propágulos infectivos, basándose en una tabla estadística. El método descrito en este manual será el propuesto por Bagyaraj y Stürmer (2012).

- Pesar 30 g de suelo de campo o inoculante, colocarlo en una bolsa de plástico limpia y añadirle 270 g del sustrato o suelo esterilizado. Agitar la mezcla para homogeneizar y así obtener una dilución de 10^{-1} .
- Tomar 30 g de la dilución anterior y colocarlo en otra bolsa que contiene 270 g de suelo sustrato estéril. Agitar bien para obtener una dilución de 10^{-2} .
- Repetir el paso anterior hasta alcanzar diluciones de 10^{-4} a 10^{-6} o más, de ser necesario.
- Distribuir el suelo de cada dilución en los tubos u hoyos de la almaciguera, haciendo 5 réplicas para cada dilución.
- Sembrar las semillas de la planta hospedera seleccionada en cada tubo u hoyo de la almaciguera.
- Desahijar los tubos o almacigueras dejando solo una planta en cada uno, después que estas germinen.
- Dejar crecer las plantas en un invernadero o en una cámara de crecimiento durante seis semanas.
- Remover las plantas y realizar la tinción de raíces de acuerdo con el punto 5.1 de este manual.

- Determinar la presencia o ausencia de colonización micorrízica en cada réplica con un microscopio de disección. El número de tubos positivos en diluciones diferentes se utilizan para calcular los valores del número más probable.

En la Figura 10 se muestra un ejemplo de uno de los posibles resultados obtenidos en una prueba para determinar los propágulos infectivos. Se puede observar que en la dilución 10^{-1} los cinco tubos fueron positivos, del mismo modo en la dilución 10^{-2} , cinco tubos fueron positivos, en la dilución 10^{-3} tres tubos fueron positivos y en la dilución 10^{-4} dos tubos fueron positivos. Por lo tanto, la secuencia numérica obtenida sería 5 - 5 - 3 - 2. Para calcular el número más probable (NMP) solo son necesarios los 3 últimos números de una secuencia por lo que nuestra secuencia sería 5- 3 - 2. El cálculo de propágulos infectivos se realiza utilizando una tabla de número más probable y multiplicando el valor obtenido de la tabla por el recíproco de la dilución.

Usando la tabla del NMP el valor dado para esta combinación (5 - 3 - 2) de plantas positivas es 140. Para obtener el NMP de propágulos infectivos de HMA en la muestra, este valor debe de ser multiplicado por el inverso de la dilución que genera el primer dígito de la combinación (5 - 3 - 2) en este caso 10^{-2} . Por lo tanto, el suelo tiene 140×10^2 propágulos infectivos por gramo de suelo.

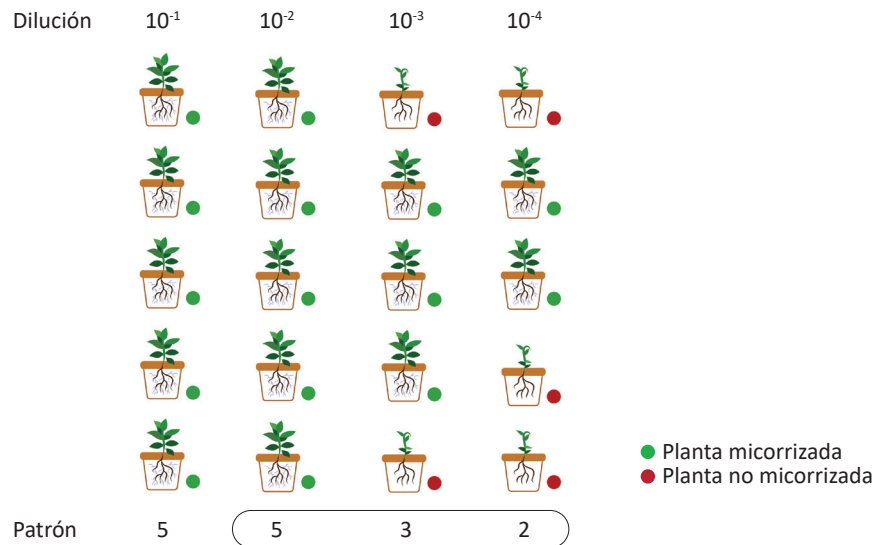


Figura 10. Esquema de la metodología de evaluación de propágulos infectivos por el método del número más probable

5.5. Producción de inóculos de hongos micorrícicos arbusculares

La producción de inóculos de HMAs se realiza utilizando el método que describen Miyasaka et al. (2003):

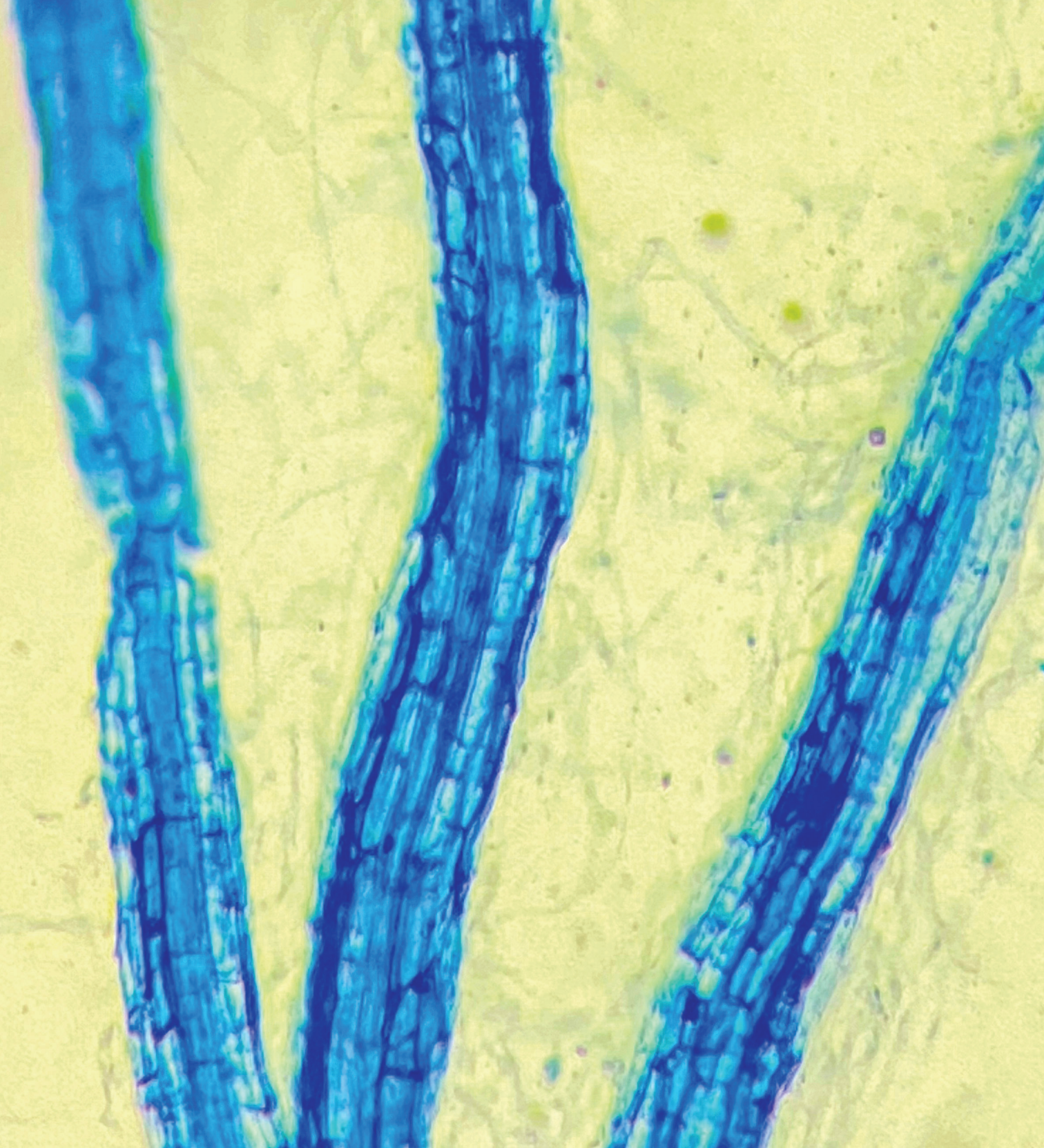
- Desinfectar las semillas de la planta hospedera seleccionada remojándolas en una solución de lejía (lejía doméstica 10 %) o una solución de hipoclorito de sodio (NaClO al 0.5 %) por 5 a 10 minutos.
- Colocar papel toalla sobre una placa Petri y humedecerlo con agua estéril. Sobre esta superficie húmeda colocar las semillas desinfectadas. Posteriormente la placa Petri deberá ser cubierta con su tapa o en su defecto colocada dentro de una bolsa plástica para evitar contaminación. Luego, se debe esperar durante tres o cuatro días hasta que las semillas germinen.
- Preparar el sustrato de crecimiento para las semillas usando roca basáltica triturada (menos de $\frac{1}{8}$ pulgadas) o arena de cuarzo. También se puede usar como sustrato una mezcla de turba con vermiculita, perlita o ceniza volcánica en una proporción 1:3 (v/v). Es importante que el sustrato de crecimiento contenga bajos niveles de fósforo, dado que altos contenidos de este elemento causarían que no se forme la asociación simbiótica entre el hongo y las raíces.
- Esterilizar el sustrato de crecimiento colocándolo en autoclave u olla a presión a 100 °C por 60 minutos. Dejar enfriar y utilizar inmediatamente.
- Colocar el sustrato en macetas de 6 a 10 pulgadas de diámetro.
- Agregar y mezclar el inóculo de HMA con el sustrato en una proporción 1:20 (v/v) o pesar 5 a 10 gramos de inóculo y colocar en los hoyos de plantación al momento de la siembra. El inóculo de HMAs puede ser un producto comercial o una cepa aislada como parte de una investigación.
- Plantar de dos a seis semillas germinadas en cada maceta y colocar las macetas en un invernadero, casa malla o tinglado, procurando que estén protegidas de la lluvia y el polvo para minimizar la contaminación.
- Regar las plantas durante 14 semanas.

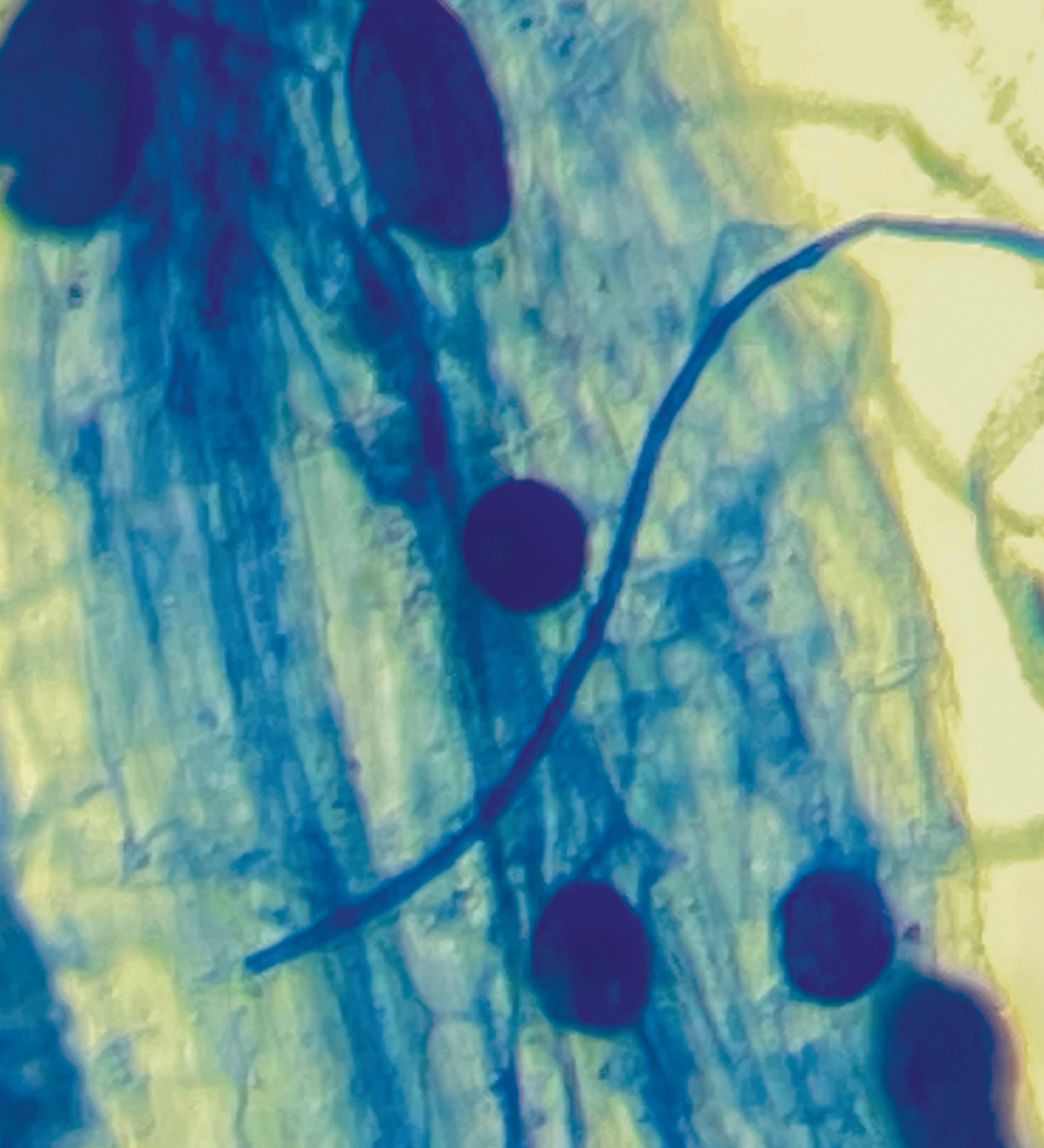
- Aplicar semanalmente a cada maceta 1 cucharadita de algún fertilizante de liberación lenta y bajo contenido en fósforo. Por ejemplo, pueden ser usados fertilizantes de liberación lenta con concentraciones de 19 - 5 - 12 o 17 - 6 - 10 (N - P - K).
- Evaluar la formación de micorrizas usando el método descrito en el acápite 5.1 en la sexta semana después de la siembra. El periodo para realizar las evaluaciones puede variar dependiendo de las condiciones ambientales.
- Esperar el desarrollo de las plantas durante 16 semanas. Al cabo de este periodo, cortar la parte aérea de las plantas y descartar.
- Verter el contenido de la maceta en una manta limpia y, con ayuda de una tijera de podar, cortar las raíces en pequeños fragmentos y mezclarlo.
- Guardar esta mezcla en el refrigerador o en un lugar fresco y seco. Este inóculo puede almacenarse por un año.

5.6. Inoculación de micorrizas en plantas

La inoculación de micorrizas se realiza utilizando el método descrito por Miyasaka et al. (2003):

- Desinfectar las semillas de la planta hospedera seleccionada remojándolas en una solución de lejía al 10 % o una solución de hipoclorito de sodio (NaClO al 0.5 %) por 5 a 10 minutos. Esta técnica de desinfección es útil para una variedad de semillas. Sin embargo, las concentraciones de desinfectante y el tiempo de desinfección deben ser evaluados. Por otro lado, para semillas que se encuentran en latencia se debe realizar otros tratamientos, como, por ejemplo, remojar la semilla en agua caliente, escarificar, etc. dependiendo de la especie con la que se trabaje.
- Colocar un papel toalla en una placa Petri y humedecerlo con agua estéril. Colocar las semillas desinfectadas sobre su superficie. Posteriormente, la placa Petri deberá ser cubierta con su tapa o en su defecto colocada dentro de una bolsa plástica para evitar contaminación. Luego, se debe esperar durante tres o cuatro días hasta que las semillas germinen.
- Preparar el sustrato de crecimiento para las semillas usando una mezcla de turba con vermiculita, perlita o ceniza volcánica en una proporción 1:3 (v/v). Es importante que el sustrato de crecimiento contenga bajos niveles de fósforo, dado que altos contenidos de este elemento causarán que no se forme la asociación simbiótica entre el hongo y las raíces.
- Esterilizar el sustrato de crecimiento colocándolo en autoclave u olla a presión de 100 °C a más por 60 minutos. Dejar enfriar y airear durante 2 a 7 días para lograr la liberación de posibles sustancias tóxicas que hayan sido generadas durante la desinfección.
- Agregar y mezclar el inóculo de HMA con el sustrato en una proporción 1:20 (v/v) o pesar 5 a 10 gramos de inóculo y colocar en los hoyos de plantación al momento de la siembra.
- Plantar las semillas germinadas en cada maceta y colocar las macetas en un invernadero, casa malla o tinglado y regar las plantas.
- Aplicar semanalmente a cada maceta 1 cucharadita de algún fertilizante de liberación lenta y bajo contenido en fósforo. Por ejemplo, pueden ser usados fertilizantes de liberación lenta con concentraciones de 19 - 5 - 12 (N - P - K). Sin embargo, la cantidad de fertilizante aplicado dependerá de la especie vegetal y el tamaño de la maceta.





6. Referencias bibliográficas

- Andrade-Torres, A. (2010). Micorrizas: Antigua interacción entre plantas y hongos. *Ciencia*, 61(4), 84-90. <https://www.revista.unam.mx/vol.13/num7/art72/art72.pdf>
- Bagyaraj, J. D., y Stürmer, S. L. (2012). Hongos micorrizógenos arbusculares (HMA). En F. Moreira, E. J. Huising, y D. E. Bignell (Eds.), *Manual de Biología de Suelos Tropicales*. Instituto Nacional de Ecología.
- Brundrett, M. C. (2009). Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: Understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant and Soil*, 320(1-2), 37-77. <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9877-9>
- Dighton, J. (2009). Mycorrhizae. En *Encyclopedia of Microbiology* (3th Ed.) (pp. 153-162).
- Egwu, U., y Hoseini, Y. (2017). Modeling the movement of phosphorus in some selected agricultural soils in Nigeria. *Desert*, 22, 31-42.
- Finlay, R. D. (2008). Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *Journal of Experimental Botany*, 59(5), 1115-1126. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern059>
- García-Garrido, J. M., y Ocampo, J. A. (2002). Regulation of the plant defence response in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Journal of Experimental Botany*, 53(373), 1377-1386. <https://doi.org/10.1093/jxb/53.373.1377>
- Garibay-Orijel, R., Morales-Marañón, E., Domínguez-Gutiérrez, M., y Flores-García, A. (2013). Caracterización morfológica y genética de las ectomicorrizas formadas entre *Pinus montezumae* y los hongos presentes en los bancos de esporas en la Faja Volcánica Transmexicana. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84(1), 153-169. <https://doi.org/10.7550/rmb.29839>

- Gerdemann, J. W., and Nicolson, T. H. (1963). Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society*, 46(2), 235-244. [https://doi.org/10.1016/s0007-1536\(63\)80079-0](https://doi.org/10.1016/s0007-1536(63)80079-0)
- Giovannetti, M., y Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84(3), 489-500. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x>
- Guzmán-González, S., y Farías-Larios, J. (2005). Biología y regulación molecular de la micorriza arbuscular. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 9(2), 17-31. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=83790202>
- Habte, M., y Osorio, N. W. (2001). Arbuscular Mycorrhizas: Producing and Applying. En *Tropical Agriculture*. College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa. https://www.ctahr.hawaii.edu/oc/freepubs/pdf/amf_manual.pdf
- Harley, J. L., y Smith, S. E. (1983). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press.
- He, J.-D., Shu, B., y Wu, Q.-S. (2020). Mycorrhizosphere of *fruit crops*: Nature and properties. En A. K. Srivastava y C. Hu (Eds.), *Fruit Crops* (pp. 325-338). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818732-6.00023-X>
- Higo, M., Tatewaki, Y., Iida, K., Yokota, K., y Isobe, K. (2020). Amplicon sequencing analysis of arbuscular mycorrhizal fungal communities colonizing maize roots in different cover cropping and tillage systems. *Scientific Reports*, 10, 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58942-3>
- Jansa, J., y Gryndler, M. (2010). Biotic Environment of the Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Soil. En H. Koltai y Y. Kapulnik (Eds.), *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function* (pp. 209-236). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-9489-6>
- Koske, R. E., y Gemma, J. N. (1989). A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas. *Mycological Research*, 92(4), 486-488. [https://doi.org/10.1016/S0953-7562\(89\)80195-9](https://doi.org/10.1016/S0953-7562(89)80195-9)

- Kraigher, H., Bajc, M., y Grebenc, T. (2013). Mycorrhizosphere Complexity. En *Climate Change, Air Pollution and Global Challenges* (1st ed., Vol. 13). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-098349-3.00008-6>
- Kumar, A., Mangla, C., Kundu, S., y Aggarwal, A. (2012). To understand arbuscular mycorrhizal fungi: a magical root symbiont for global sustainable agriculture. *Advances in Bio Research*, 3(1), 78-84. https://soeagra.com/abr/abr_march2012/16.pdf
- Leake, J. R. (1994). The biology of myco-heterotrophic ('saprophytic') plants. *New Phytologist*, 127(69), 171-216.
- Lee, E.-H., y Eom, A.-H. (2014). Monotropoid Mycorrhizal Characteristics of *Monotropa uniflora* (Ericaceae) Collected from a Forest in Korea. *The Korean Journal of Mycology*, 42(3), 243-246. <https://doi.org/10.4489/kjm.2014.42.3.243>
- Miyasaka, S. C., Habte, M., Friday, J. B., y Johnson, E. V. (2003). Manual on Arbuscular Mycorrhizal Fungus Production and Inoculation Techniques. *Soil and Crop Management*, 5, 1-4.
- Newman, E. I., y Reddell, P. (1987). The Distribution of Mycorrhizas Among Families of Vascular Plants. *New Phytol.*, 106, 745-751. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1987.tb00175.x>
- Oehl, F., Da Silva, G. A., Goto, B. T., Maia, L. C., y Sieverding, E. (2011). Glomeromycota: Two new classes and a new order. *Mycotaxon*, 116, 365-379. <https://doi.org/10.5248/116.365>
- Oehl, F., y Sieverding, E. (2004). *Pacispora*, a new vesicular arbuscular mycorrhizal fungal genus in the glomeromycetes. *Journal of Applied Botany*, 78(1), 72-82.
- Parra-Rivero, S. M., Maciel-De Sousa, N. M., Sanabria-Chopite, M. E., y Pineda, J. (2018). Descripción anatómica de la colonización de hongos micorrízicos arbusculares en dos leguminosas arbóreas. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, 24(2), 183-196. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5154/r.rchscfa.2017.02.014>

- Phillips, J. M., y Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55(1), 158-161. [https://doi.org/10.1016/s0007-1536\(70\)80110-3](https://doi.org/10.1016/s0007-1536(70)80110-3)
- Pozo, M. J., Jung, S. C., López-Ráez, J. A., y Azcón-Aguilar, C. (2010). Impact of Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis on Plant Response to Biotic Stress: The Role of Plant Defence Mechanisms. En H. Koltai y Y. Kapulnik (Eds.), *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function* (pp. 193-207). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-9489-6>
- Redecker, D., y Raab, P. (2006). Phylogeny of the Glomeromycota (arbuscular mycorrhizal fungi): Recent developments and new gene markers. *Mycologia*, 98(6), 885-895. <https://doi.org/10.3852/mycologia.98.6.885>
- Riaz, M., Kamran, M., Fang, Y., Wang, Q., Cao, H., Yang, G., Deng, L., Wang, Y., Zhou, Y., Anastopoulos, I., y Wang, X. (2021). Arbuscular mycorrhizal fungi-induced mitigation of heavy metal phytotoxicity in metal contaminated soils: A critical review. *Journal of Hazardous Materials*, 402, 1-15. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123919>
- Rosling, A., Roose, T., Herrmann, A. M., Davidson, F. A., Finlay, R. D., y Gadd, G. M. (2009). Approaches to modelling mineral weathering by fungi. *Fungal Biology Reviews*, 23(4), 138-144. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbr.2009.09.003>
- Ruiz-Lozano, J. M., y Aroca, R. (2010). Host Response to Osmotic Stresses: Stomatal Behaviour and Water Use Efficiency of Arbuscular Mycorrhizal Plants. En H. Koltai y Y. Kapulnik (Eds.), *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-90-481-9489-6_11
- Saparrat, M. C. N., Ruscitti, M., y Arango, M. C. (2020). *Micorrizas arbusculares: Biología y aplicaciones en el sector agro-forestal*. Editorial de la Universidad de la Plata.
- Schüßler, A., y Walker, C. (2010). *The Glomeromycota: A species list with new families and new genera*. The Royal Botanic Garden Kew. http://www.arbuscular-mycorrhiza.net/species_infos/higher_taxa/funneliformis_claroideoglomus_rhizophagus_redeckera.pdf

- Siddiqui, Zaki A., y Pichtel, J. (2008). Mycorrhizae: An Overview. En Z.A. Siddiqui, M.S. Akhtar and K. Futai (Eds.), *Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry* (pp. 1-36). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8770-7>
- Sieverding, E., y Oehl, F. (2006). Revision of *Entrophospora* and description of *Kuklospora* and *Intraspora*, two new genera in the arbuscular mycorrhizal Glomeromycetes. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 80, 69-81.
- Smith, S.E., y Read, D. J. (1997). *Mycorrhizal Symbiosis* (3th ed). Academic Press.
- Smith, Sally E., y Read, D. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370526-6.X5001-6>
- Tedersoo, L., Sánchez-Ramírez, S., Kõljalg, U., Bahram, M., Döring, M., Schigel, D., May, T., Ryberg, M., y Abarenkov, K. (2018). High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. *Fungal Diversity*, 90, 135-159. <https://doi.org/10.1007/s13225-018-0401-0>
- Thirkell, T. J., Pastok, D., y Field, K. J. (2020). Carbon for nutrient exchange between arbuscular mycorrhizal fungi and wheat varies according to cultivar and changes in atmospheric carbon dioxide concentration. *Global Change Biology*, 26(3), 1725-1738. <https://doi.org/10.1111/gcb.14851>
- Tsado, P. A, Osunde, O. A, Igwe, C. A, Adeboye, M. K. A, y Lawal, B. A. (2012). Phosphorus sorption characteristics of some selected soil of the Nigerian Guinea Savanna. *International Journal of AgriScience*, 2, 613-618.
- Turnau, K., Ryszka, P., y Wojtczak, G. (2010). Metal Tolerant Mycorrhizal Plants: A Review from the Perspective on Industrial Waste in Temperate Region. En H. Koltai y Y. Kapulnik (Eds.), *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function* (pp. 257-276). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-90-481-9489-6>
- Tyub, S., Kamili, A., Reshi, Z., Mearaj, S., Mokhdomi, T., Bukhari, S., Wafai, A., Amin, A., y Qadri, R. (2016). Ectomycorrhizae: Activity and Growth. *European Academic Research*, 4(6), 4481-4505. [https://doi.org/10.1016/eaj\(iv\)8\4481-4505](https://doi.org/10.1016/eaj(iv)8\4481-4505)

- Urcelay, C., Pasquini, R., Cánovas, S., y Liébana, V. (2005). Colonización micorrícica en tres especies de Orquídeas nativas de las Sierras de Córdoba, Argentina. *Kurtiazana*, 31(1-2), 51-57. https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/33923/CONICET_Digital_Nro.4636c640-f7d1-4060-89e5-54d405adbcff_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- van der Heijden, M. G. A., Martin, F. M., Selosse, M. A., y Sanders, I. R. (2015). Mycorrhizal ecology and evolution: The past, the present, and the future. *New Phytologist*, 205(4), 1406-1423. <https://doi.org/10.1111/nph.13288>
- Wang, Q., Liu, M., Wang, Z., Li, J., Liu, K., y Huang, D. (2024) The role of arbuscular mycorrhizal symbiosis in plant abiotic stress. *Front. Microbiol.* 14:1323881. doi: 10.3389/fmicb.2023.1323881
- Wang, W., Shi, J., Xie, Q., Jiang, Y., Yu, N., y Wang, E. (2017). Nutrient Exchange and Regulation in Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *Molecular Plant*, 10(9), 1147-1158. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2017.07.012>
- Weil, R. R., y Brady, N. C. (2017). *The Nature and Properties of Soils* (15th ed.). Pearson Education Limited.
- Yu, T. E., Egger, K. N., y Peterson, L. R. (2001). Ectendomycorrhizal associations - Characteristics and functions. *Mycorrhiza*, 11(4), 167-177. <https://doi.org/10.1007/s005720100110>



Instituto Nacional de Innovación Agraria

D. : Av. La Molina 1981, La Molina
T. : (511) 240-2100 / 240-2350
www.gob.pe/inia

ISBN: 978-9972-44-176-9




PERÚ

Ministerio
de Desarrollo Agrario
y Riego



Instituto Nacional de Innovación Agraria

 @INIAPeru  @INIAPeru  @iniaperu  @IniaPeru  @iniaperu  @iniaperu