

**EVALUACIÓN DE MICORRIZAS NATIVAS Y COMERCIALES
COMBINADAS CON LOMBRICOMPOSTA EN PLANTAS DE TOMATE
(*Solanum lycopersicum L.*) EN INVERNADERO**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO



OSCAR ÁVILA PERALTA

TESIS

Presentada como Requisito para Obtener el Grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Saltillo, Coahuila, Mexico. Junio de 2015

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
SUBDIRECCIÓN DE POSGRADO**

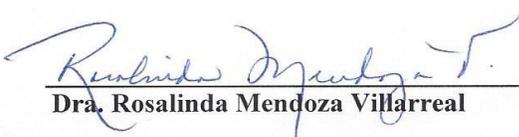
**EVALUACIÓN DE MICORRIZAS NATIVAS Y COMERCIALES
COMBINADAS CON LOMBRICOMPOSTA EN PLANTAS DE TOMATE
(*Solanumlycopersicum L.*) EN INVERNADERO**

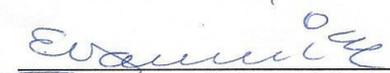
**T E S I S
OSCAR ÁVILA PERALTA**

Elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de Asesoría y aprobada como requisito parcial, para optar al grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

COMITÉ PARTICULAR

Asesor principal 
Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal

Asesor 
Dr. Edmundo Mario Rodríguez Campos

Asesor 
Dr. Alberto Flores Olivas

Asesor 
Dr. Antonio Cárdenas Flores


Dr. Alberto Sandoval Rangel
Subdirector de Postgrado

Saltillo, Coahuila, México. Junio de 2015

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Paginas
COMPENDIO.....	Vi
ABSTRACT.....	Viii
AGRADECIMIENTOS.....	X
DEDICATORIAS.....	Xi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivogeneral.....	4
Objetivos específicos.....	4
Hipótesis.....	4
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
2.1.- Micorrizas.....	5
2.2.- Ectomicorrizas.....	5
2.3.- Endomicorrizas.....	6
2.3.1.- Ericoides.....	6
2.3.2.- Orquidoides.....	6
2.3.3.- Arbusculares.....	7
2.4.- Ectendomicorrizas.....	7
2.5.- Micorrizas arbusculares.....	7
2.6.- Características generales de los hongos MA.....	9
2.7.- Desarrollo y establecimiento de la simbiosis.....	11
2.8.- Fase presimbiótica.....	12
2.9.- Fase simbiótica.....	15
2.10.- Adquisición de nutrientes minerales desde el suelo y transferencia a la planta.....	20
2.11.- Transferencia de carbono de la planta al hongo.....	23
2.12.- El amonio como fuente de N para plantas y microorganismos.....	26
2.13.- Absorción, transporte y metabolismo de N en micorrizas arbusculares.....	28
2.14.- Poblaciones de HMA en ecosistemas naturales.....	31
2.15.- Micorrizas arbusculares como alternativa a la nutrición mineral del tomate.....	33
2.16.- Lombricomposta.....	34
2.17 Beneficios de la lombricomposta.....	35
III.- ARTÍCULO “Crecimiento vegetativo y estado nutrimental de tomate en respuesta a los sustratos orgánicos y la inoculación con consorcios de hongos micorrizicos nativos del norte de México”.....	37
IV. CONCLUSIONES GENERAL ES.....	63
V. LITERATURA CITADA.....	64

ÍNDICE DE CUADROS

	Paginas
ARTÍCULO	
Cuadro 1 Composición del sustrato y aplicación de hongos micorrízicos comerciales y nativos aplicados en tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) cv. Rio Grande en condiciones de invernadero.....	43
Cuadro 2 Efecto de los sustratos orgánicos y hongos micorrízicos inoculados sobre el crecimiento y micorrización en plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) cv. Rio Grande cultivado en invernadero.....	46
Cuadro 3 Efecto de los sustratos orgánicos y hongos micorrízicos inoculados en plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) cv. Rio Grande sobre la concentración de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K).....	51

ÍNDICE DE FIGURAS

		Paginas
ARTÍCULO	Efecto de los sustratos orgánicos y de las micorrizas inoculadas en la micorrización en plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) cv. Rio Grande.....	47
Figura 1		
Figura 2	Efecto de los sustrato orgánicos y la inoculación micorrízica en la altura, diámetro de tallo y longitud de raíz en plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) cv. Rio Grande.....	47
Figura 3	Efecto de los sustratos orgánicos y de las micorrizas inoculadas en la materia seca de raíz y parte aérea de plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) cv. Rio Grande.....	49
Figura 4	Efecto de los sustratos orgánicos y de las micorrizas inoculadas en la concentración de N, P y K en la raíz y parte aérea de plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) cv. Rio Grande.....	50
Figura 5	Efecto del porcentaje de micorrización sobre la altura, concentración de P, N y K en el tejido aéreo de plantas de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) cv. Rio Grande.....	52
Figura 2.1	Ciclo de vida de los hongos MA.....	19
Figura 2.2	Vías de absorción de nutrientes en plantas micorrizadas.....	21
Figura 2.3	Modelo propuesto para la absorción, translocación y transferencia de N en hongos MA.....	29

COMPENDIO

EVALUACIÓN DE MICORRIZAS NATIVAS Y COMERCIALES COMBINADAS CON LOMBRICOMPOSTA EN PLANTAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum L.*) EN INVERNADERO

POR

OSCAR ÁVILA PERALTA

MAESTRO EN CIENCIAS
EN HORTICULTURA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, junio de 2015

Dra: Rosalinda Mendoza Villarreal. – Asesor-

Palabras clave: fósforo, micorrización, nitrógeno, lombricomposta, *Solanum lycopersicum*, turba ácida.

Los hongos micorrizicos arbusculares (HMA) probablemente forman la asociación simbiótica terrestre más extendida en la naturaleza, la simbiosis micorriza arbuscular. Entre el 70 y 80% de las especies de plantas terrestres son capaces de formar dicha simbiosis. La ventaja de utilizar este tipo de biotecnología es la disminución y ahorrar insumos así como, la mínima agresividad sobre los agroecosistemas, además los HMA tienen la capacidad de aumentar espacio de la absorción de nutrientes, pues esto debido a la red de micelio que puede alcanzar una densidad de hasta 100 metros de hifas por centímetro cúbico de suelo. Estas hifas, por su tamaño (con un diámetro medio de 3-4 μm) y distribución, son capaces de explorar un volumen de suelo mayor que las propias raíces, penetrando poros y cavidades del suelo en los que las raíces por su tamaño (diámetro $\geq 10 \mu\text{m}$) no pueden penetrar. Por lo que la función principal de los

hongos micorrízicos es facilitar a la planta la absorción de agua, fósforo (P) y nitrógeno (N), además de mejorar las propiedades fisicoquímicas del suelo y la formación de agregados por medio de la adhesión de partículas debida a una proteína exudada por el micelio llamada glomalina. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de consorcios de micorrizas nativas (CN1 y CN2) y comerciales (*Rhizophagus irregularis*) combinadas con un sustrato a base de lombricomposta o turba ácida sobre el desarrollo de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* cv. Rio Grande). El diseño experimental fue un bloques completos al azar con un arreglo factorial de 2x4, con 8 tratamientos y 6 repeticiones, cada repetición consistió de un contenedor con una planta. Se aplicó 1 gr de micorriza comercial (500 ea g⁻¹), mientras que la aplicación de suelo nativo fue de 100 g (500 ea g⁻¹) por planta. Las variables de altura de planta, diámetro de tallo, longitud de raíz, peso seco de raíz, peso seco de la parte aérea y total de planta fueron afectadas por los sustratos y hongos y por la interacción entre estos factores. El porcentaje de micorrización también fue afectado por la interacción, las raíces de plantas desarrolladas en lombricomposta y turba ácida e inoculadas con CN1 tuvieron el mayor porcentaje de micorrización, para el primer muestreo, asimismo, las plantas desarrolladas en turba ácida mostraron una disminución en el porcentaje de micorrización comparadas con aquellas desarrolladas en lombricomposta. La concentración de los nutrimentos disminuyó en comparación con el testigo a excepción de nitrógeno.

ABSTRACT

**Evaluation of native and comercial vermicompost combined with mycorrhizae on
greenhouse tomato (*Solanum lycopersicum*) plants**

BY

OSCAR ÁVILA PERALTA

**MASTER OF SCIENCE
IN HORTICULTURE**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, Junio de 2015

Dra Rosalinda Mendoza Villarreal. - Adviser-

Key words: phosphorus, mycorrhization, nitrogen, *Solanum lycopersicum*, sphagnum moss, vermicompost.

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are probably the most widespread symbiotic association terrestrial in nature. The form between 70 and 80% of terrestrial plant species. The advantage of using this type of biotechnology is that you can save inputs as well as less aggressive on agro-ecosystems, AMF also have the ability to raise cash for the absorption of nutrients space. So we know that the external mycelium network can reach a density of up to 100 meters of hyphae per cubic centimeter of soil. The fungal hyphae, their size (mean diameter 3.4 microns) and distribution, are able to explore a

larger volume of soil that their roots penetrating pores and cavities in the ground where the roots, its size (diameter \geq 10 microns) can not penetrate. It is so the mycorrhizal fungi supply water, phosphorus (P) and nitrogen (N) to the plants, and improve the physicochemical properties of the soil through the formation of aggregates by adhesion of soil particles. In the present study, the response of tomato (*Solanum lycopersicum* cv. Rio Grande) to the inoculation of native (in consortium) and commercial mycorrhizal fungi was evaluated in combination with a sphagnum peat- or vermicompost-based growing medium. Plant height, stem diameter, root length, root dry weight, and dry weight of shoot and total plant were affected by the interaction between the substrates and fungi inoculation. The roots of plants developed in vermicompost or sphagnum peat and inoculated with the native mycorrhizal consortium fungi exhibited the highest mycorrhization while the plants developed in sphagnum peat showed decreased colonization compared with those developed in vermicomposting. Concentration of nutrients decreased compared to the control, except for nitrogen.

AGRADECIMIENTOS

A la **NARRO**, “Bendita Universidad, gracias por permitirme realizarme profesionalmente, me comprometo a seguir preparándome para defenderte siempre con orgullo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)

A la **Dra Rosalinda Mendoza Villarreal**. Gracias por haberme permitido obtener un grado más, le agradezco profundamente por confiar en mí, no defraudaré su confianza y siempre recordaré sus palabras de aliento.

Al Dr. **Edmundo Mario Rodríguez Campos**. Agradezco su tiempo en el primer semestre de este proyecto, obtuve y mejore ideas para el desarrollo de este trabajo.

Al **Dr. Alberto Flores Olivas**. Agradezco su valiosa colaboración en este proyecto de investigación.

Al Dr. **Antonio Cárdenas Flores**. Sus valiosas observaciones ayudaron a mejorar este proyecto de investigación. Gracias Dr. por colaborar en este proyecto

Al **Dr Alejandro Hernández Herrera**. Le agradezco profundamente sus consejos y gracias por ser mi amigo

A los **Doctores Luis Alonso Valdez Aguilar y Armando Hernández Pérez**. Les estaré profundamente agradecido por su valiosa colaboración en este proyecto de investigación y de vida, este trabajo fue pulido por ustedes. Gracias.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo con mucho respeto a mis padres, **Urbano Ávila Hernández y Elvira Peralta López**, quienes con sus sabios consejos provocaron que fijara objetivos grandes de vida como éste que está a punto de terminar.

A mis hermanos Blanca Ávila Peralta, Celestino Ávila Peralta, Urbano Ávila Peralta y Vicente Ávila Peralta, que con sus palabras de aliento también formaron parte de este logro.

A ti Norayma Isabel Pérez Roblero gracias por existir y ayudarme en momentos complicados, te agradezco amor mío.

Y finalmente a ti “UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO” eres y seguirás siendo la más grande de todas las escuelas de agronomía.

I. INTRODUCCIÓN

Una de las hortalizas de mayor demanda es el tomate (*Solanum lycopersicum* L.), por su alto consumo a nivel mundial y para los productores ya que representa un medio de entrada de grandes cantidades de divisas. Es el segundo cultivo más importante de las hortalizas a nivel mundial, junto con la papa (*Solanum tuberosum*). En el año 2014 se alcanzó una producción mundial cerca de los 160 millones de toneladas de una superficie de 4.73 millones de ha cosechadas (FAOSTAT, 2014). En este mismo año México obtuvo una producción anual total de 2,694,350.19 toneladas en 47,000 ha, con una ganancia de 15,045,508.72 pesos, en la modalidad de riego y temporal (SIAP 2014). Sin embargo esta producción es altamente dependiente de fertilizantes químicos así como de varios productos de síntesis esto trae como consecuencia la degradación del agroecosistema y tomates de mala calidad nutritiva, así como el desequilibrio en el sistema suelo-planta, por la disminución de las actividades microbianas y del potencial productivo de las cosechas (Altieri y Nicholls, 2000); por otra parte, los agroquímicos utilizados en los productos hortícolas preocupan al consumidor, sobre todo por su residualidad (Fernández, 2009). También estos productos sintéticos representan un gran costo en la producción. Se ha estimado que el 50% del N suministrado se pierde por lixiviación así también se dice que el P tiene una eficiencia de 40% y el K un 70% lo que conlleva a una gran pérdida económica e importantes problemas medioambientales. Tal problemática ha provocado el uso de biofertilizantes los cuales son ideales para mantener cosechas sanas, y a la vez, mejorar las propiedades químicas, físicas y

biológicas del suelo o del sustrato donde crecen las plantas. Dentro de los biofertilizantes se encuentran, los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), estos han sido muy eficientes como sustitutos del fertilizante mineral (Smith *et al.*, 2011; Pérez, 2012) y a su combinación con abonos orgánicos como la lombricomposta, se le atribuye una mayor eficacia, por tener un efecto sinérgico (Minaxi *et al.*, 2013; Maya *et al.*, 2012). La principal función de los HMA es la mejora de la nutrición mineral de la planta, por lo que esta simbiosis cobra mayor interés, especialmente en la investigación agronómica. El micelio de los HMA incrementa el área de absorción en la raíz de la planta hasta 100 veces mayor (Smith y Read, 1997) por lo que las plantas micorrizadas tienen mayor contenido de macro y micro nutrimentos (Clark, y Zeto, 1996). En general, las plantas micorrizadas presentan un incremento en las tasas fotosintéticas (Dixon *et al.*, 1994) y mayor tolerancia a la sequía (Osonobi *et al.*, 1992) y salinidad (Rosendhal y Rosendhal, 1991). También, se ha reportado que incrementa la tolerancia de la raíz a patógenos (Smith y Read, 1997) y la captación de metales pesados en suelos contaminados. Por su parte la lombricomposta es un tipo de fertilizante orgánico con una efectividad, en muchos casos, superior a la de otros abonos orgánicos como los estiércoles naturales. En estudios a largo plazo, se ha demostrado que su adición produce una disminución significativa de la densidad aparente, un aumento de la estabilidad de los agregados y de la capacidad de retención de agua del suelo (Albiach *et al.*, 2001; Ferreras *et al.*, 2006; Weber *et al.*, 2007), así como un incremento de la concentración de carbono orgánico y de las cantidades totales de nutrientes esenciales para las plantas en comparación con los fertilizantes minerales (Nardi *et al.*, 2004; Weber *et al.*, 2007). La adición de este fertilizante orgánico al medio donde crecen las plantas incrementa la concentración de

sustancias húmicas de estructura molecular compleja y aumenta la relación ácidos húmicos/fúlvicos (Albiach *et al.*, 2001; Nardi *et al.*, 2004; Weber *et al.*, 2007). Asimismo, modifica las propiedades químicas, cambios en las propiedades biológicas del suelo, aumentando la biomasa y la actividad microbiana así como distintas actividades enzimáticas y la estructura de las comunidades microbianas (Benitez *et al.*, 2000; Arancon *et al.*, 2005; Ros *et al.*, 2006). Por lo que la adición de lombricomposta, aumenta y eficientiza los microorganismos beneficios para el crecimiento de las plantas, reduciendo el número de microorganismos patógenos y aumenta la actividad biológica de los ácidos húmicos extraídos del suelo con efectos hormonales similares a los de las giberelinas (Bulluck *et al.*, 2002; Nardi *et al.*, 2004). En este contexto la aplicación combinada de HMA y lombricomposta puede ser una alternativa viable para producción de tomate en invernadero por lo que el objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de consorcios de micorrizas nativas y comerciales (*Rhizophagus irregularis*) combinadas con lombricomposta y turba ácida sobre el desarrollo de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Rio Grande.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de consorcios de micorrizas nativas y comerciales (*Rhizophagus irregularis*) combinadas con lombricomposta y turba ácida sobre el desarrollo de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Rio Grande.

Objetivos específicos

1. Obtener esporas de HMA nativas a partir de suelo manejado orgánicamente y de suelo manejado de forma convencional.
2. Evaluar el efecto de las HMA nativas combinadas con lombricomposta en los caracteres agronómicos y bioquímicos de las plantas de tomate.

HIPÓTESIS

Al inocular esporas de HMA nativos y lombricomposta se incrementará la asimilación de nutrientes en comparación con una fertilización inorgánica.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1.- Micorrizas

La palabra micorriza (del griego mikos, hongo, y rhiza, raíz) describe la asociación simbiótica que se establece entre determinados hongos del suelo y las plantas. Este término fue utilizado por primera vez por Bernhardt Frank en 1885 mientras estudiaba la viabilidad del cultivo de la trufa, pero fue hasta mediados del siglo XX cuando se establece el significado y la importancia de estas asociaciones, así como su presencia en la práctica de los sistemas suelo-planta (Barea y Jeffries, 1995). Las micorrizas son en general, simbiosis de carácter mutualista, en las que el hongo le proporciona a la planta nutrientes minerales y agua procedentes del suelo y a cambio, la planta le cede al hongo hidratos de carbono derivados de la fotosíntesis. En la actualidad se estima que entre el 90 y 95% de las plantas terrestres son capaces de establecer algún tipo de micorrizas. En base a criterios morfológicos y funcionales, se han descrito tres grandes tipos de micorrizas (Smith y Read, 2008; Finlay 2008):

2.2.- Ectomicorrizas. Este tipo de micorrizas se presentan en especies de interés forestal como Fagáceas, Pináceas y Quercíneas, entre otras familias con características de bosques de zonas templadas. Estos se caracterizan principalmente porque las hifas del hongo limitan su desarrollo a los espacios intercelulares del córtex, sin penetrar en el interior de las células de la raíz, formando la característica de la red de Hartig. La superficie de la raíz queda rodeada por un denso entramado de hifas que constituyen el denominado manto (Smith y Read, 2008). Los hongos que forman este tipo de

micorrizas pertenecen al phylum Basidiomycota, aunque también algunos miembros del phylum Ascomycota pueden formar la simbiosis, estimándose que al menos 10.000 especies de hongos y 8.000 especies de plantas pueden estar implicadas en este tipo de asociación micorrícica (Taylor y Alexander, 2005).

2.3.- Endomicorrizas. Se caracterizan principalmente porque las hifas del hongo penetran el interior de las células de la epidermis y/o córtex de la raíz, pero sin atravesar nunca la membrana plasmática. Son las más extendidas en la naturaleza, en cuanto a especies vegetales que las establecen y ecosistemas en que se encuentran. Dentro de este grupo podemos distinguir tres subgrupos fundamentales:

2.3.1.- Ericoides. Este tipo de endomicorrizas es característico de las plantas de la familias: Ericaceae, Empetraceae y Epacridaceae (todas pertenecientes al orden Ericales) y de hongos pertenecientes mayoritariamente al phylum Ascomycota, aunque también algunos Basidiomycota pueden formar este tipo de micorriza. En general, los hongos implicados presentan una gran versatilidad en el uso de distintas fuentes de C, N y P (de origen orgánico o inorgánico), lo que confiere a las plantas formadoras de este tipo de micorrizas capacidad para crecer en suelos con elevado contenido de materia orgánica (St-John *et al.*, 1985).

2.3.2.- Orquidoides. Este tipo de endomicorrizas lo forman plantas de la familia Orquidaceae y hongos del phylum Basidiomycota. En esta asociación, la planta, presenta una fase heterótrofa en su ciclo de vida, recibe compuestos carbonados a través del hongo (Smith, 1966). El hongo penetra en las células de la raíz invaginando la membrana plasmática de la célula hospedadora. Dentro de las células forma ovillos y agregados de hifas poco estructurados que al degenerar liberan los nutrientes que

contienen.

2.3.3.- Arbusculares. Son las más extendidas en la naturaleza. Se caracterizan por formar arbusculos (estructuras fúngicas muy ramificadas) en el interior de las células del córtex.

2.4.- Ectendomicorrizas. Son las menos extendidas y presentan características comunes con los dos tipos de micorrizas expuestos anteriormente. Presentan un manto más o menos denso la red de Hartig normalmente bien desarrollada y con frecuencia, las hifas penetran ligeramente en el interior de las células del córtex, formando enrollamientos u ovillos (Yu *et al.*, 2001; Gutiérrez *et al.*, 2003). Los hongos que forman este tipo de micorriza pertenecen al phylum Basidiomycota y de las plantas de la familia Ericaceae, fundamentalmente a los géneros *Arbutus* y *Monotropa*.

2.5.- Micorrizas arbusculares

Las micorrizas arbusculares (MA) probablemente son la asociación simbiótica terrestre más extendida en la naturaleza. La forman entre el 70 y 80% de las especies de plantas terrestres y hongos pertenecientes al phylum monofilético Glomeromycota (Schüßler *et al.*, 2001; Hibbett *et al.*, 2007). Tan sólo algunos taxones vegetales no presentan dicha asociación, como son las familias, Brassicaceae, Fumariaceae, Urticaceae, Polygonaceae y Quenopodiaceae (Wang y Qiu, 2006). Los hongos formadores de MA son simbioses obligados pues dependen de la planta hospedadora para completar su ciclo de vida. La planta suministra al hongo compuestos carbonados procedentes de la fotosíntesis, a cambio de nutrientes minerales y agua que absorbe del suelo a través de su micelio externo o extrarradical del hongo (Smith y Read, 2008). En el interior de las células del córtex de la raíz, el hongo desarrolla unas estructuras arborescentes denominadas

arbúsculos (del latín arbusculum, que significa arbusto o árbol pequeño), que se encuentran rodeadas por la membrana plasmática de la célula que los alberga (Smith y Gianinazzi-Pearson, 1988). Los efectos beneficios de la simbiosis de las MA a la nutrición mineral de la planta hospedadora pueden explicarse, en parte, por el aumento de superficie efectiva que el micelio extrarradical del hongo MA le aporta a la raíz. Asimismo, es conocido que la red de micelio externo puede alcanzar una densidad de hasta 100 metros de hifas por centímetro cúbico de suelo (Miller *et al.*, 1995). Las hifas del hongo, por su tamaño (con un diámetro medio de 3-4 μm) y distribución, son capaces de explorar un volumen de suelo mayor que las propias raíces, penetrando poros y cavidades del suelo en los que las raíces por su tamaño (diámetro $\geq 10 \mu\text{m}$) no pueden penetrar (Jakobsen 1994). Por otro lado, las hifas de los hongos MA son capaces de absorber y transportar nutrientes desde largas distancias, superando las zonas de agotamiento en agua y nutrientes minerales que rodean las raíces. Esto es especialmente importante para aquellos nutrientes de lenta liberación como es el caso del fósforo (Miller *et al.*, 1995). Otros estudios sugieren que las hifas son capaces de competir más eficientemente que las raíces con otros microorganismos del suelo por la absorción de nutrientes (Linderman 1992). Autores como (Alberton *et al.*, 2005), consideran que lo bueno para la planta, lo debe ser también para el hongo, y que el hongo siempre actúa en beneficio de su planta hospedadora (Hodge *et al.*, 2010). Aunque el principal beneficio de las MA es la mejora de la nutrición mineral de la planta, la formación de la simbiosis también la protege frente a estreses de tipo biótico (ataque de organismos patógenos) (Liu *et al.*, 2007; Pozo y Azcón-Aguilar, 2007; Koricheva *et al.*, 2009) y abiótico (salinidad, sequía, frío, presencia de metales pesados) (Lozano *et al.*, 2006; Aroca *et al.*,

2007; Ferrol *et al.*, 2009). Adicionalmente, la red de hifas del hongo que se desarrolla en el suelo contribuye a mejorar la estructura del mismo al facilitar la formación de agregados estables en agua (Piotrowski *et al.*, 2004; Rillig y Mummey, 2006).

2.6.- Características generales de los hongos MA

Los hongos MA y las plantas han evolucionado en una estrecha e íntima relación desde hace unos 460 millones de años. Quizás sea esta evolución conjunta la causa de una de las características principales de este tipo de hongos, su carácter de biotrofos obligados. Todos los hongos MA requieren de una planta hospedadora para completar su ciclo de vida, que culmina con la formación de nuevos propágulos viables (Azcón-Aguilar *et al.*, 1991, 1999). Esta característica es el principal determinante de la dificultad que presentan tanto el estudio de la biología de los hongos MA, como su desarrollo. No se les conoce ninguna fase de reproducción sexual, pero sí la formación de esporas de resistencia sobre hifas vegetativas. Se ha propuesto que el principal mecanismo responsable de la formación de las esporas multinucleadas es el flujo masivo de núcleos desde la hifa de sustentación hacia la nueva espora (Jany y Pawlowska, 2010). Aunque se acepta que los hongos MA se reproducen asexualmente, análisis transcriptómicos recientes indican que estos hongos disponen de la información genética necesaria para llevar a cabo la meiosis y en consecuencia una reproducción sexual (Tisserant *et al.*, 2012). Las hifas de los hongos MA son cenocíticas, con cientos de núcleos compartiendo un mismo citoplasma, al igual que en las esporas. En repetidas ocasiones se ha manifestado la formación de anastomosis entre hifas de la misma especie e incluso entre aislados muy relacionados entre sí (Giovannetti *et al.*, 2001; de la Providencia *et al.*, 2005; Purin y Morton, 2011), permitiendo el intercambio de núcleos (Giovannetti *et al.*,

2001). La primera estimación del tamaño del genoma de los hongos MA fue proporcionada por Bianciotto y Bonfante (1992), quienes determinaron que el contenido de ADN nuclear de *Glomus versiforme* era de 250 Mb y el de *Gigaspora margarita* de 740 Mb. Sorprendentemente, el genoma de *Glomus intraradices* DAOM197198, recientemente renombrado por Krüger *et al.* (2012) como *Rhizophagus irregularis* DAOM197198, resultó ser muy pequeño, próximo al límite de los genomas eucariotas (14.07 ± 3.52 Mb). Hay, sin embargo, otras muchas con menor número de copias repartidas por el genoma (Gollotte *et al.*, 2006). No se han encontrado transposones, pero sí secuencias con homología con Long Terminal Repeats (LTRs) de retrotransposones (Gollotte *et al.*, 2006). Otra característica del genoma de estos hongos es su bajo contenido de GC, entorno al 30-35% (Martin *et al.*, 2008), con casi el 25% de la citosina metilada, un valor bastante alto para hongos. A modo de ejemplo, *Neurospora crassa* presenta tan sólo 1-2% del total de la citosina metilada (Russel *et al.*, 1987). Otra característica muy importante es que en el citoplasma de algunos hongos MA se han identificado bacterias endosimbióticas. Un tipo de estos endosimbiontes, con forma de bacilo, está restringido a la familia *Gigasporaceae* y al igual que los propios hongos que los albergan, son incapaces de desarrollar una fase de vida independiente (Jargeat *et al.*, 2004). El origen y función de estas bacterias, identificadas como *Candidatus Glomeribacter gigasporarum*, es desconocido, aunque estudios moleculares revelan que están relacionadas con *Burkholderia*, un grupo de bacterias saprofitas que interviene en el reciclaje de la materia orgánica y que pueden actuar como patógenos de animales y plantas (Bianciotto *et al.*, 2003). La eliminación de estas bacterias compromete seriamente el desarrollo y crecimiento presimbiótico del hongo (Lumini *et al.*, 2007). El

otro tipo de endosimbionte, con forma de coco y denominados BLOs (del inglés bacterium-like organisms), se ha detectado en el interior de diferentes hongos MA tanto en esporas como en hifas (MacDonald *et al.*, 1982). Recientes análisis moleculares los relacionan con un antiguo e inusual grupo de bacterias carentes de pared, las *Mollicutes*, que son parásitos celulares de algunas plantas y animales (Naumann *et al.*, 2010).

2.7.- Desarrollo y establecimiento de la simbiosis

El establecimiento de la simbiosis de las MA requiere de la activación de un complejo programa de desarrollo, tanto en la planta como en el hongo, cuyos determinantes genéticos han sido parcialmente descritos en la planta a través de la caracterización de líneas mutantes defectivas en el proceso de micorrización (Parniske 2008; Oldroyd *et al.*, 2009). Al contrario de lo que ocurre en raíces infectadas por hongos patógenos, las raíces micorrizadas no muestran signos de daño alguno. La colonización de la raíz por los hongos MA provoca tan solo una activación débil, localizada y transitoria de los mecanismos de defensa de la planta (Smith y Read, 2008), es decir, la planta permite esta colonización sin mostrar resistencia aparente. Este hecho facilita la interacción estable de ambos simbioses y es, en cierta medida, la base del biotrofismo de los hongos MA. Durante la interacción con las plantas, muchos microorganismos secretan pequeñas proteínas (SSPs), que entran en las células vegetales modificando el metabolismo y modulando las respuestas de defensa, es decir, actuando como efectores (Jiang, 2011). Klopffholz *et al.* (2011) caracterizaron la primera SSP en un hongo MA, denominada SP7. Estos autores han mostrado que SP7 entra en el núcleo de células de *Medicago truncatula* e interacciona con el factor de transcripción relacionado con patogénesis MtERF19. Esta interacción inhibe la activación de los genes de defensa

influida por MtERF19. Las hormonas vegetales participan y tienen un papel clave durante el desarrollo de la simbiosis MA. Trabajos recientes sugieren que tanto el ácido abscísico (ABA), como los jasmonatos (JAs) podrían desempeñar un papel regulador importante en el establecimiento, desarrollo y mantenimiento de la simbiosis (García-Garrido *et al.*, 2010; López-Ráez *et al.*, 2010). Por otro lado, trabajos de Hanlon y Coenen (2011) sugieren que las auxinas también pueden estar implicadas en el establecimiento y formación de la micorriza. La formación de la simbiosis comprende dos fases fundamentales: (I) señalización y reconocimiento hongo-planta (fase presimbiótica), y (II) colonización de la raíz y desarrollo de estructuras fúngicas intra y extrarradicales que permiten el establecimiento de una simbiosis funcional (fase simbiótica).

2.8.- Fase presimbiótica

En condiciones adecuadas de humedad y temperatura, las esporas son capaces de germinar incluso en ausencia de raíces (p.ej., en agar agua). Si las hifas producidas no encuentran una raíz susceptible de ser colonizada, el hongo retrae el citoplasma y la espora entra nuevamente en reposo (Azcón-Aguilar *et al.*, 1999). Las esporas pueden experimentar múltiples y sucesivas rondas de germinación y retracción antes de encontrar una raíz susceptible (Azcón-Aguilar *et al.*, 1999). Cuando las hifas entran en el campo de influencia de una raíz compatible o son expuestas a sus exudados, se produce la ramificación de las mismas y una estimulación del crecimiento, aumentando de este modo la posibilidad de establecer contacto con la raíz. Hoy día se sabe que entre las moléculas señal responsables de la ramificación de las hifas en la rizosfera, así como de los cambios fisiológicos (inducción de la división nuclear, activación mitocondrial,

etc.) que experimentan los hongos MA en respuesta a los exudados radicales, se encuentran las estrigolactonas (Akiyama *et al.*, 2005; Besserer *et al.*, 2008). La secreción de estrigolactonas por la raíz y su rápida hidrólisis hace de ellas una magnífica señal de proximidad de la raíz en la rizosfera (Akiyama *et al.*, 2010; López-Ráez *et al.*, 2011). En un principio, las estrigolactonas se identificaron como lactonas de sesquiterpenos (Akiyama *et al.*, 2005); sin embargo, posteriormente se ha demostrado que son un tipo de apocarotenoides, que derivan de la rotura enzimática oxidativa de los carotenoides por acción de los carotenos dioxigenasas (CCDs, del inglés carotenoid cleavage dioxygenases), y que comparten una ruta de síntesis similar a la del ABA (Matusova *et al.*, 2005). Trabajos de López-Ráez *et al.* (2008) han demostrado que la producción y secreción de estrigolactonas se induce en condiciones de ayuno de fosforo inorgánico (Pi), habiéndose propuesto que este incremento podría ser utilizado por la planta como reclamo para “invitar” a los hongos MA a colonizar la raíz y obtener así el beneficio que estos le proporcionan. Asimismo, las estrigolactonas también estimulan la germinación de semillas de plantas parásitas, como las pertenecientes a los géneros *Striga* y *Orobancha*, que invaden la raíz de otras plantas. Se ha comprobado que las estrigolactonas constituyen un nuevo tipo de hormona vegetal, capaz de inhibir la ramificación del tallo (Gomez-Roldan *et al.*, 2008; Umehara *et al.*, 2008) y afectar al crecimiento de la raíz, induciendo su elongación y disminuyendo el número y longitud de los pelos radicales (Koltai *et al.*, 2010; Ruyter-Spira *et al.*, 2011). Otro tipo de molécula señal que puede estar involucrado en esta primera etapa de reconocimiento son los flavonoides, tal y como ocurre en la simbiosis *Rhizobium*-leguminosa. Sin embargo, el efecto que estos compuestos ejercen sobre el crecimiento y desarrollo de los hongos

MA en la fase presimbiótica no está claro, ya que se ha descrito que un mismo flavonoide puede ejercer efectos positivos o negativos en diferentes hongos (Requena *et al.*, 2007). Al igual que el hongo reacciona ante la presencia de una planta hospedadora, también esta se prepara para el establecimiento de la simbiosis. Así, en presencia del hongo se inicia un programa de desarrollo que es, en parte, similar al desencadenado para la formación de la simbiosis Rhizobium- leguminosa. Se ha observado que determinados mutantes de leguminosas afectados en la nodulación también tienen alterada la formación de micorrizas (Chabaud *et al.*, 2002). En este sentido se ha comprobado que las moléculas señal producidas por los hongos MA, denominadas de forma colectiva como factores Myc, son capaces de activar genes de la planta, como el gen Enod11 de leguminosas y otros implicados en la transducción de señales (Kosuta *et al.*, 2003; Weidmann *et al.*, 2004). Se ha identificado la naturaleza molecular de estas señales, consistente en una mezcla de lipoquito-oligosacáridos (LCOs, de sus siglas en inglés) sulfatados y no sulfatados, los cuales poseen una estructura molecular similar a los factores nod producidos por los rizobios (Maillet *et al.*, 2011). Por otra parte, se ha observado que los hongos MA son capaces de producir señales difusibles que retrasan algunas respuestas de la planta como la formación de raíces laterales (Oláh *et al.*, 2005), o la acumulación de almidón en la raíz (Gutjahr *et al.*, 2011), el cual decrece tras la colonización como resultado de la transferencia de carbono hacia el hongo. Por analogía con lo que ocurre en la simbiosis Rhizobium-leguminosa (Oldroyd y Downie, 2006), se ha propuesto que el Ca^{2+} podría estar involucrado en la transducción de señales en las MA. Utilizando plantas de *Medicago truncatula* transformadas con el gen reportero de Ca^{2+} camaleón se ha observado que, al igual que ocurre en la simbiosis Rhizobium-

leguminosa, los hongos MA inducen cambios en los niveles de Ca^{2+} citoplasmáticos (Kosuta *et al.*, 2008) y nucleares (Chabaud *et al.*, 2011), y en las células epidérmicas cercanas a los puntos de contacto entre el hongo y la planta. Esto ocurre, antes de que el hongo MA contacte directamente con la planta, por lo que se ha propuesto que podrían preparar las células de la epidermis para la colonización. En este sentido, un trabajo reciente de Campos-Soriano *et al.* (2011) ha propuesto como iniciador de la fase presimbiótica al gen OsCPK18, y una proteína kinasa dependiente de Ca^{2+} que se induce en el córtex radical como respuesta a la inoculación con *G. intraradices*.

2.9.- Fase simbiótica

Una vez que el hongo MA contacta con la superficie de la raíz forma una estructura de precolonización llamada apresorio o hifopodio, a través del cual entrará a la raíz. Estudios transcriptómicos de los hongos MA durante la formación del apresorio sugieren que el Ca^{2+} podría actuar como segundo mensajero en la transmisión de las señales que el hongo recibe de la planta (Breuninger y Requena, 2004). Tras la formación del apresorio se forma una especie de protuberancia que penetra y atraviesa las células epidérmicas, y que está siempre rodeada por la membrana plasmática de la célula hospedadora, evitándose el contacto entre la pared del hongo y el citoplasma de la célula vegetal (Genre y Bonfante, 2007). Antes de que el hongo penetre en la raíz se produce una importante reorganización celular que, mediante la fusión de cisternas de retículo endoplasmático y la reordenación del citoesqueleto, da lugar a la formación del denominado aparato de pre-penetración, una especie de túnel transcelular a través del cual la hifa penetra en la raíz (Genre *et al.*, 2005). Una vez que el hongo ha atravesado la epidermis y llega al córtex, comienza a crecer a lo largo del eje de la raíz, de forma

inter y/o intracelular. Las hifas se extienden pasando de célula a célula, formando bucles (coils) a partir de los cuales se producen los arbusculos. Sin embargo, esta distinción morfológica no es tan clara, produciéndose a menudo colonizaciones intermedias (Dickson, 2004). La formación de los arbusculos supone una profunda reorganización de la célula que los aloja, lo que se manifiesta, principalmente, por la proliferación del plasmalema (que rodea todas y cada una de las hifas del hongo) y la deformación del protoplasto para acomodar al arbusculo. En este proceso, también se produce una reordenación del citoesqueleto que desplaza el núcleo a una posición central y provoca la fragmentación de la vacuola (Genre *et al.*, 2008). Adicionalmente se produce una proliferación de plastidios que se disponen formando una red plastidial alrededor del arbusculo (Strack y Fester, 2006). En ellos tienen lugar numerosas actividades biosintéticas, incluidas las implicadas en la producción de los apocarotenoides que se acumulan específicamente en raíces micorrizadas (Walter *et al.*, 2007). Todas las estructuras intracelulares del hongo quedan aisladas del citoplasma de la célula hospedadora mediante la membrana plasmática, que se invagina a medida que el hongo crece y que, a nivel de los arbusculos, recibe el nombre de membrana periarbuscular. Las células colonizadas por arbusculos entre ambos simbiontes es muy elevada y las barreras físicas que separan la planta y el hongo, es decir, las paredes celulares, quedan reducidas a un mínimo. Es por ello por lo que se asume que el intercambio de nutrientes y señales entre ambos simbiontes tiene lugar fundamentalmente a nivel de la interfase simbiótica arbuscular, que está constituida por la membrana periarbuscular, el espacio o matriz interfacial, la pared del hongo (muy reducida a nivel de las hifas más finas del arbusculo) y la membrana plasmática del hongo (Ferrol *et al.*, 2002; Balestrini y

Bonfante, 2005). Análisis ultraestructurales de la matriz interfacial indican la presencia de moléculas características de la pared celular primaria de la planta, incluyendo β -1,4-glucanos, poligalacturonanos no esterificados, xiloglucanos, proteínas ricas en hidroxiprolina y arabinogalactanos (Bonfante y Perotto, 1995; Gianinazzi-Pearson, 1996). Por otro lado, la naturaleza ácida de la matriz interfacial (Guttenberger 2000), resultado de la actividad de las H⁺-ATPasas de ambos simbioses (Krajinski *et al.*, 2002; Requena *et al.*, 2003), genera un gradiente de potencial electroquímico con respecto al citoplasma de los simbioses que, probablemente, favorece los procesos de transporte de nutrientes (Requena *et al.*, 2003). La vida media de los arbusculos es muy breve, entre 8 y 9 días (Javot *et al.*, 2007). Transcurrido este tiempo, los arbusculos colapsan y degeneran, volviendo la célula que los albergaba a su estado original. Una misma célula puede acoger durante su vida colonizaciones sucesivas (Bonfante-Fasolo 1984). No se conocen los mecanismos que regulan la degeneración de los arbusculos, ni estos están controlados por la célula hospedadora o forman parte de la dinámica de crecimiento del hongo. Concretamente, se ha observado que la formación del PPA y la inducción de las oscilaciones nucleares de Ca²⁺ en respuesta a los hongos MA requieren de la activación de esta ruta sym de señalización (Siciliano *et al.*, 2007; Chabaud *et al.*, 2011). Simultáneamente a la colonización intraradical, el hongo desarrolla en el suelo una extensa red de micelio que explora y explota los diferentes microhábitats del mismo en busca de nutrientes minerales y agua, parte de los cuales cederá a la planta. Inicialmente, los hongos MA desarrollan unas hifas relativamente gruesas, denominadas hifas exploradoras, que crecen con una marcada dominancia apical y que son las responsables del avance del micelio y de la extensión de la colonia fúngica. Estas hifas exploradoras

producen ramificaciones de forma periódica (hifas secundarias), que a su vez vuelven a ramificarse sucesivamente dando lugar a hifas terciarias, cuaternarias, etc. La vida media de los diferentes tipos de hifas es variable, siendo mayor la de las hifas más gruesas, ya que constituyen el armazón de la red de micelio (Staddon *et al.*, 2003). Sobre las hifas se desarrollan, a intervalos regulares, unas estructuras muy ramificadas que, en cierta medida, recuerdan a los arbuscúlos y que se denominan estructuras ramificadas de absorción (BAS), cuya hipotética función es la absorción de nutrientes del medio (Bago 2000). Los BAS son estructuras transitorias y al cabo de unos 21 días retraen su contenido citoplasmático, a menos que desarrollen esporas. Estas esporas, en función de la especie del hongo MA, pueden desarrollarse de forma aislada o agrupadas en cuerpos fructíferos conocidos como esporocarpos (como en *G. mosseae*), cerrándose de este modo el ciclo de vida de los hongos MA (Figura 1). El micelio extrarradical de los diferentes hongos MA presenta patrones de crecimiento y frecuencias de anastomosis y ramificación que difieren de unas especies a otras. Posiblemente estas diferencias reflejen las diferentes estrategias de exploración y ocupación de los diferentes nichos del suelo.

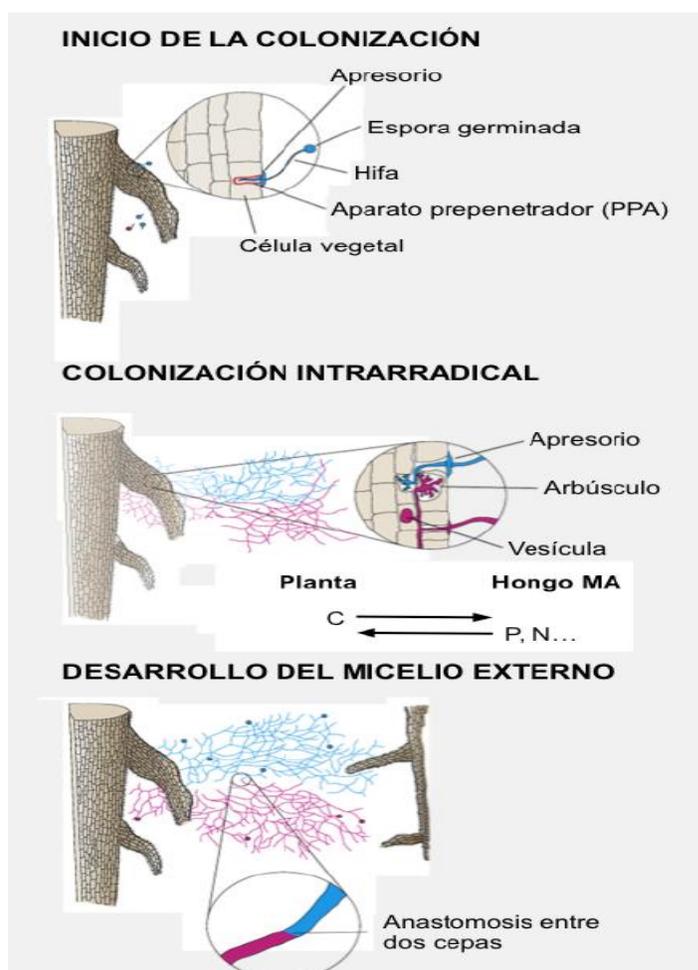


Figura 1. Ciclo de vida de los hongos MA. Adaptado de Denison y Kiers (2011).

La mayoría de las especies pertenecientes al género *Glomus* forman grandes redes de micelio, altamente ramificadas y con gran número de anastomosis. Estas redes de micelio son más resistentes a las perturbaciones del suelo que el micelio de especies de los géneros *Scutellospora* o *Gigaspora*, las cuales desarrollan largas hifas que, probablemente, son capaces de explorar regiones más distantes de la raíz (de la Providencia *et al.*, 2005; Voets *et al.*, 2006). Con ellos va a desarrollar una serie de interacciones de gran importancia para el desarrollo de las plantas, el equilibrio de las

poblaciones microbianas, la formación de agregados estables en el suelo y, mantenimiento de la estructura y funcionalidad de los sistemas suelo-planta (Jeffries y Barea, 2001; Smith y Read, 2008).

2.10.- Adquisición de nutrientes minerales desde el suelo y transferencia a la planta

Tradicionalmente, el transporte y la transferencia de Pi se ha considerado el proceso fisiológico clave por el cual los hongos MA mejoran el crecimiento vegetal (Barea *et al.*, 2008; Ferrol y Pérez-Tienda, 2009), pero cada vez son mayores las evidencias que indican que los hongos MA juegan un papel importante en la nutrición nitrogenada de la planta (Veresoglou *et al.*, 2012), así como en la absorción de otros nutrientes de baja movilidad en el suelo como el Cu o Zn (Clark y Zeto, 2000). A cambio la planta le cede al hongo compuestos carbonados procedentes de la fotosíntesis. Como se sabe, el micelio extrarradical actúa como una extensión de la raíz ayudando a la planta a absorber nutrientes de baja movilidad en el suelo, fundamentalmente Pi. En la solución del suelo, el Pi está presente en forma de ortofosfato, el cual es rápidamente unido por los cationes presentes en suelo, especialmente en condiciones ácidas. La movilidad de del Pi es muy baja, por lo que la absorción por la planta consume rápidamente el P presente en la zona de influencia de las raíces, creándose zonas de agotamiento o depleción en este nutriente alrededor de las mismas (Barea *et al.*, 2007; Bucher, 2007). El desarrollo del micelio extrarradical en el suelo aumenta considerablemente la superficie de absorción de las plantas micorrizadas, superando las zonas de depleción de nutrientes y accediendo a lugares donde las raíces no pueden acceder (Smith y Read, 2008). Por esta razón, se considera que en plantas micorrizadas coexisten dos vías de absorción de nutrientes: la vía directa llevada a cabo por las células epidérmicas y la vía

indirecta o micorrícica mediante las hifas del hongo (Smith y Smith, 2012). Mediante la vía directa, se absorbe nutrientes y están implicados distintos transportadores de nutrientes expresados en las células epidérmicas de la raíz. Mientras que la vía indirecta o micorrícica están implicados los transportadores de nutrientes fúngicos expresados en el micelio externo y los transportadores de nutrientes de la planta expresados en la interfase simbiótica establecida entre el hongo y la planta (Figura 2).

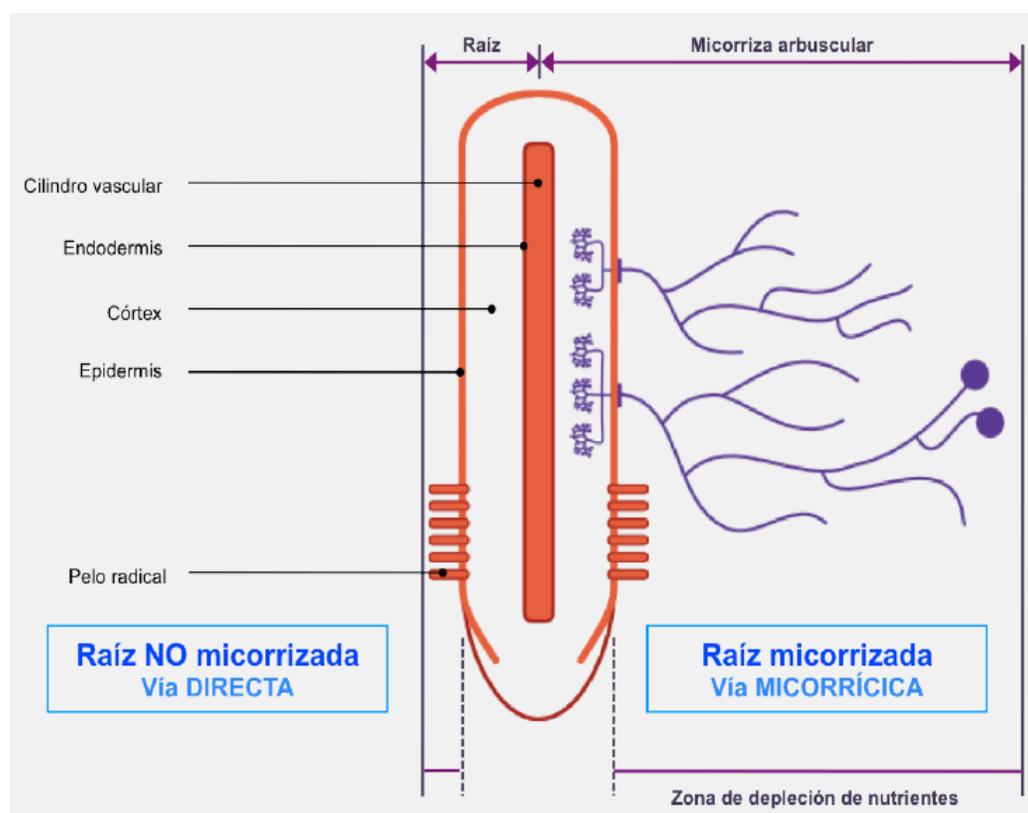


Figura 2. Vías de absorción de nutrientes en plantas micorrizadas.

La inducción o la expresión específica en raíces micorrizadas de diferentes transportadores evidencia la posible existencia de diferentes vías de absorción micorrícica para diferentes nutrientes minerales, así como la modulación de la vía

directa de absorción de los mismos. La existencia de estas dos vías de transporte en plantas micorrizadas se pone de manifiesto claramente en el caso del Pi (Smith *et al.*, 2003), donde la vía micorrícica puede ser responsable del 100% de la incorporación de Pi en algunas especies vegetales (Smith *et al.*, 2004). El Pi absorbido por el micelio extrarradical se almacena fundamentalmente en las vacuolas, para evitar un aumento de la presión osmótica y mantener el flujo de Pi. En las vacuolas el Pi se polimeriza rápidamente formando cadenas de polifosfatos (poliP) (Ezawa *et al.*, 2004; Tani *et al.*, 2009). Las cadenas de poliP, estabilizadas con cationes (K^+ o Mg^{2+} ; Ryan *et al.*, 2003) o con otros compuestos cargados positivamente como la arginina (Arg^+) (Jin *et al.*, 2005), son translocadas hacia el micelio intrarradical en vacuolas tubulares asociadas a los microtúbulos del citoesqueleto que dirigen las corrientes citoplasmáticas (Olsson *et al.*, 2002; Uetake *et al.*, 2002). Una vez en el interior de la raíz, el poliP es hidrolizado (Ohtomo y Saito, 2005), sale de la vacuola y posteriormente se libera a la matriz interfacial que rodea al arbusculo, donde es absorbido por la célula hospedadora mediante transportadores de Pi de la planta presentes en la membrana periarbuscular. En diferentes especies vegetales se han identificado transportadores de Pi que se inducen específicamente durante la simbiosis, concretamente en células colonizadas por arbusculos. Estos transportadores son los responsables de la absorción de Pi por la planta a través de la vía micorrícica (Nagy *et al.*, 2005; Maeda *et al.*, 2006). Es de destacar que, simultáneamente, determinados transportadores de las células epidérmicas, responsables de la vía directa de absorción, a menudo se inhiben durante el desarrollo de la simbiosis (Hohnjec *et al.*, 2005). Estos resultados indican que la activación de la vía micorrícica de absorción de nutrientes induce una inhibición de la vía directa.

2.11.- Transferencia de carbono de la planta al hongo

La primera evidencia experimental sobre la transferencia de compuestos carbonados desde la planta al hongo fue proporcionada por Ho y Trappe (1973), quienes usando $^{14}\text{CO}_2$ demostraron que, tras unas semanas, se detectaba C marcado en el micelio del hongo. El uso de sustratos marcados radiactivamente ha mostrado que los hongos MA son capaces de absorber carbohidratos a partir de la planta en forma de hexosas, preferentemente glucosa (Solaiman y Saito, 1997). Hasta hace poco se creía que el micelio extrarradical era incapaz de absorber hexosas, aunque sí podía utilizar acetato o glicerol como fuente de carbono (Pfeffer *et al.*, 1999). Recientemente, Helber *et al.* (2011) han observado, usando también sustratos marcados radiactivamente, que el micelio extrarradical sí que es capaz de absorber glucosa y xilosa, y que esta absorción transcurre por un mecanismo de transporte activo. Sin embargo, la radiactividad no se detecta en las raíces, lo que sugiere que los azúcares tomados por el micelio externo son retenidos para el propio uso del hongo. Puesto que la sacarosa es la principal forma en la que se transportan los fotoasimilados, la utilización de la misma como fuente de energía, tanto por las raíces como por los hongos micorrícicos, requiere que esta sea hidrolizada en glucosa y fructosa. Se ha demostrado que la micorrización altera la expresión de algunos genes que codifican enzimas en plantas de trébol (Wright *et al.*, 1998), así como en *Phaseolus vulgaris* (Blee y Anderson, 2002), maíz (Ravnskov *et al.*, 2003), *M. truncatula* (Hohnjec *et al.*, 2003) y tomate (García-Rodríguez *et al.*, 2007). Estos datos sugieren que estas enzimas proveen de metabolitos (hexosas) a las células colonizadas para satisfacer la demanda del hongo y mantener la mayor actividad metabólica asociada a la micorrización. Además también están indirectamente involucradas en el

mantenimiento de un flujo de sacarosa desde los tejidos fuente (generalmente las hojas) hacia la raíz micorrizada que actúa como demanda. Trabajos como los de (Schaarschmidt *et al.*, 2007; Schaarschmidt y Hause, 2008), ponen de manifiesto que el suministro de carbono de la planta al hongo y el normal desarrollo de la micorrización depende de la actividad de las invertasas apoplásticas. Por otro lado el mecanismo por el cual los azúcares pasan a las interfases simbióticas aún se desconoce. Hasta ahora existen pocas evidencias moleculares de la presencia de transportadores en la membrana de las células vegetales en contacto con las interfases simbióticas que puedan exportar azúcares. Sin embargo, se ha observado que la micorrización induce la expresión de algunos genes que codifican transportadores de hexosas en raíces de *M. truncatula* (Liu *et al.*, 2003; Hohnjec *et al.*, 2005). Entre estos transportadores el mejor caracterizado es MtST1, el cual se expresa tanto en células colonizadas por arbusculos como en células adyacentes no colonizadas. Este transportador está implicado en la absorción de hexosas mediante un proceso de simporte con protones, lo que sugiere su implicación para mantener la mayor actividad metabólica asociada a la micorrización. Este hecho sugiere que tanto la planta como el hongo compiten por las hexosas presentes en las interfases simbióticas, por lo que la planta ejerce algún tipo de control sobre la cantidad de C que drena hacia el hongo. Por otro lado, también se ha observado la activación transcripcional de transportadores de hexosas en raíces micorrizadas de maíz (Wright *et al.*, 2005) y en hojas de plantas de tomate micorrizadas (García-Rodríguez *et al.*, 2005). La inducción de transportadores de azúcares en hojas de plantas micorrizadas sugiere que la micorrización regula el flujo de azúcares desde los tejidos fuente hacia las demandas. Un mecanismo alternativo, propuesto por Bago *et al.* (2000) que explicaría la

transferencia de azúcares hacia las interfases simbióticas sería la difusión pasiva a través de las membranas celulares en contacto con el hongo o bien siguiendo directamente la vía apoplástica. Por su parte, Helber *et al.* (2011) han descubierto al gen (MST2), transportador de monosacáridos y capaz de absorber un amplio espectro de sustratos carbonados: glucosa, xilosa, manosa y fructosa. Este se expresa tanto en arbusculos, como en hifas intercelulares y actúa como un transportador de alta afinidad para glucosa, dependiente de un transporte secundario de H^+ con un pH óptimo de 5, similar al pH de la matriz interfacial establecida entre el hongo y la planta (Guttenberger 2000). La expresión de este gen en la interfase simbiótica está fuertemente correlacionada con la expresión de los genes de la planta que codifican para transportadores de fosfato específicos de la simbiosis (MtPT4 y StPT4), lo que sugiere que su expresión pueda estar regulada por la homeostasis de fosfato en la raíz (Helber *et al.*, 2011). Estos mismos autores han demostrado que la expresión de este transportador se induce fuertemente en el micelio extrarradical en presencia de xilosa, lo que sugiere que en el interior de la raíz la xilosa pueda ser el desencadenante de la expresión de MST2. Además, utilizando una novedosa técnica de silenciamiento génico (HIGS, del inglés Host-Induced Gene Silencing) se ha observado que MST2 es crítico para el correcto desarrollo de la simbiosis. Tras su absorción por el hongo, los monosacáridos son rápidamente transformados en trehalosa y glucógeno, o son metabolizados por la vía de las pentosas fosfato, con el fin de disminuir la osmolaridad y mantener los gradientes en una concentración favorable a la transferencia (Shacha-Hill *et al.*, 1995). Parte de estos carbohidratos son transformados en compuestos lipídicos (triacilglicéridos) en el micelio intrarradical y posteriormente serán transportados al micelio extrarradical en donde,

mediante gluconeogénesis, se transformarán en carbohidratos (Bago *et al.*, 2002b).

2.12.- El amonio como fuente de N para plantas y microorganismos

El NH_4^+ desempeña un papel clave en el metabolismo del N en la mayoría de los seres vivos. Muchos organismos, especialmente bacterias y microorganismos eucariotas, prefieren el NH_4^+ como fuente de N. Esto es debido a que su absorción y asimilación requiere un menor gasto energético que otras fuentes de N, que deben transformarse en NH_4^+ antes de poder ser utilizadas en las diferentes rutas metabólicas (Marzluf 1996). Por lo general, la concentración de NH_4^+ en los suelos agrícolas oscila entre 20 y 200 μM , siendo entre unas 50 y 250 veces menor que la concentración de NO_3^- (Owen y Jones, 2001). El NH_4^+ es relativamente inmóvil en el suelo y, en consecuencia, sufre menos pérdidas por lixiviación que el NO_3^- . Además, la actividad agrícola/ganadera e industrial provoca en determinados suelos la acumulación de importantes cantidades de NH_4^+ . En estos casos, el NH_4^+ pasaría a ser la forma de N predominante, con concentraciones que van desde 2 mM en algunos suelos forestales, hasta 20 mM en algunos suelos agrícolas (Britto y Kronzucker, 2002). Concentraciones elevadas de NH_4^+ pueden resultar tóxicas para algunas especies, posiblemente debido a la disipación del gradiente de protones a través de las membranas biológicas, a la acidificación del medio externo como consecuencia del transporte de NH_4^+ , o al desequilibrio en el balance ácido/base (Gerendás *et al.*, 1997). En el caso de las plantas, los efectos tóxicos del exceso de NH_4^+ pueden deberse también a la ausencia de NO_3^- . Además de ser un importante osmolito, el NO_3^- es un ion esencial para la translocación de cationes en el xilema y actúa como una señal que induce la expresión de genes involucrados en el metabolismo de los ácidos orgánicos y en la síntesis de almidón (Stitt, 1999), así como

los de la mayoría de los que están relacionados con la absorción y asimilación de N (Wang *et al.*, 2003; Scheible *et al.*, 2004).

Durante décadas se pensó que los flujos de amonio a través de las membranas celulares no requerían sistemas de transporte específicos y que tenían lugar mediante difusión de NH_3 . En solución acuosa, la forma protonada y desprotonada del NH_4^+ y NH_3 respectivamente, se encuentran en un equilibrio dependiente del pH, con un pKa de 9.25. Esto implica que el NH_4^+ es la forma predominante en condiciones fisiológicas. A pH neutro, aproximadamente el 1% se encuentra en forma de NH_3 . Diferentes estudios han revelado que las membranas lipídicas son relativamente impermeables al NH_4^+ , mientras que son relativamente permeables al NH_3 , por lo que en cualquier sistema biológico deben darse tanto la difusión del NH_3 como el transporte específico del NH_4^+ . Los diferentes gradientes electroquímicos y de pH a través de las membranas van a afectar al equilibrio de $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$. Las plantas y algunos microorganismos acidifican el medio que los rodea y utilizan transportadores de NH_4^+ de la membrana, para mantener una concentración interna de NH_3 hasta 100 veces superior a la externa. Además del pH, el potencial de membrana y la actividad de los transportadores, las reacciones enzimáticas que generan o consumen NH_4^+ también son importantes para mantener su concentración. Por ejemplo, en plantas y microorganismos, el NH_4^+ es fácilmente y eficientemente asimilado por la enzima glutamina sintetasa (GS) y la glutamato deshidrogenasa (GDH). Para mantener la concentración citoplasmática deseada, ya que concentraciones altas de NH_4^+ resultan citotóxicas y promueve la asimilación de N y el crecimiento, las plantas y microorganismos han desarrollado sistemas de transporte altamente específicos y mecanismos de recuperación del NH_3 perdido durante el metabolismo. En los últimos

años se ha logrado un avance espectacular en el conocimiento de los mecanismos de absorción de NH_4^+ . Esto ha sido posible gracias al desarrollo de métodos fisiológicos que han permitido medir in vivo la tasa de influjo y eflujo de NH_4^+ , así como el uso de técnicas moleculares y genéticas que han permitido identificar los genes responsables de su transporte.

2.13.- Absorción, transporte y metabolismo de N en micorrizas arbusculares

Utilizando diferentes sistemas in vitro se ha puesto de manifiesto que el micelio extrarradical es capaz de tomar N y transferir a la raíz entre 20 y 50% del N total absorbido (Govindarajulu *et al.*, 2005; Jin *et al.*, 2005). Por otro lado, Tanaka y Yano (2005) estimaron que en plantas de maíz micorrizadas el 75% del N total de las hojas era absorbido y transferido por el micelio extrarradical de *Glomus aggregatum*. Se ha observado también que los hongos MA son capaces de transferir N de una planta a otra a través de la red de micelio que comparten (Cheng y Baumgartner, 2004; He *et al.*, 2009). Se ha comprobado, igualmente, que pueden acelerar la descomposición de la materia orgánica del suelo, incrementando así la disponibilidad de N (Leigh *et al.*, 2009). Los hongos MA son capaces de absorber y asimilar distintas formas de N como amonio (Frey y Schüepp, 1993), nitrato (Johansen *et al.*, 1996) y aminoácidos (Hodge *et al.*, 2001). Aunque son capaces de absorber y asimilar tanto NH_4^+ como NO_3^- , existe una clara preferencia por el NH_4^+ (Toussaint *et al.*, 2004), lo cual se podría explicar, al menos en parte, por la energía extra que el hongo necesita gastar para reducir el NO_3^- a NH_4^+ antes de incorporarlo en compuestos orgánicos (Raven *et al.*, 1992). La translocación del N desde el micelio extrarradical al intrarradical ocurre por procesos asociados al transporte de poliP y al ciclo de la urea, según el modelo propuesto por

Bago *et al.* (2001) (Figura 2) y que está avalado por diferentes estudios de expresión génica, análisis bioquímicos y de marcaje isotópico (Govindarajulu *et al.*, 2005; Jin *et al.*, 2005; Cruz *et al.*, 2007; Tian *et al.*, 2010).

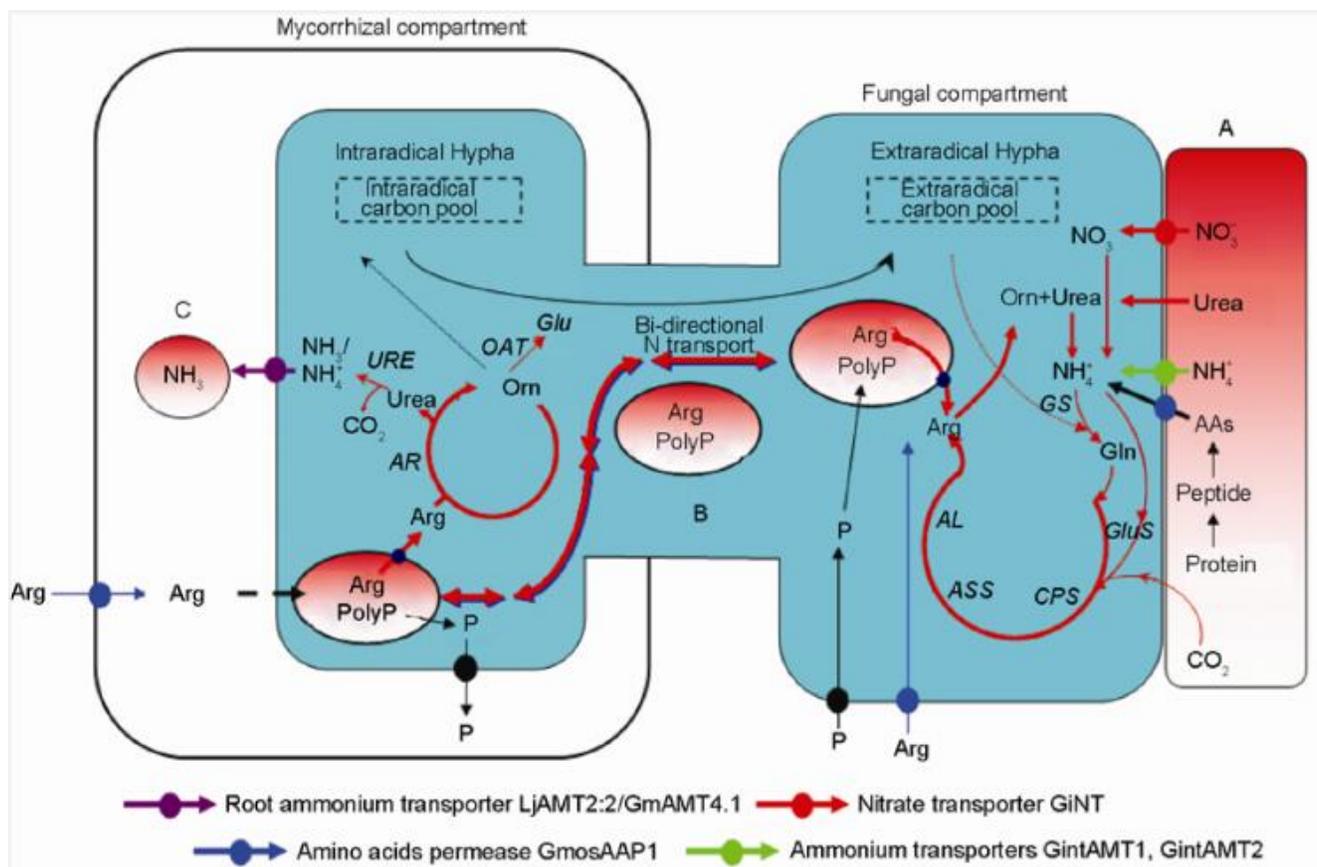


Figura 3. Modelo propuesto para la absorción, translocación y transferencia de N en hongos MA. Tomada de de Jin *et al.* (2012).

El proceso comienza con la entrada del NH_4^+ o NO_3^- a través de los transportadores específicos ya mencionados. Posteriormente, el NO_3^- es transformado en NH_4^+ por la nitrato reductasa (NR), actividad que se ha detectado en esporas (Ho y Trappe, 1975) y en extractos de raíces micorrizadas (Subramanian y Charest, 1998). El NH_4^+ absorbido o procedente de la reducción del NO_3^- es posteriormente asimilado por el micelio

extrarradical del hongo mediante el ciclo GS/GOGAT (Breuninger *et al.*, 2004; Govindarajulu *et al.*, 2005; Tian *et al.*, 2010), aunque el papel de la GDH no puede ser excluido. Una vez incorporado en forma de aminoácidos, el N es translocado hacia el micelio intrarradical principalmente como Arg, el aminoácido mayoritario en el micelio externo (Jin *et al.*, 2005). La Arg se transloca en el interior de las vacuolas, asociada a cadenas de poliP, lo que contribuye a la neutralización de las cargas negativas de estos. En el arbúsculo, se produce NH_4^+ a partir de la Arg, mediante la acción del brazo catabólico del ciclo de la urea y se supone que es en esta forma en la que el hongo transfiere N a la planta (Govindarajulu *et al.*, 2005; Jin *et al.*, 2005). Este mecanismo requeriría que las enzimas implicadas en la síntesis y degradación de aminoácidos se expresaran de forma diferencial en el micelio extrarradical e intrarradical del hongo. Por otro lado, estudios bioquímicos sobre la actividad de diferentes enzimas, como la GS, ASS, ARG y URE, tanto en el micelio externo como en raíces micorrizadas también avalan el papel de la Arg como molécula clave en la translocación de N en el micelio de los hongos MA (Cruz *et al.*, 2007). La posibilidad de una transferencia directa de Arg, o de algún otro aminoácido, desde el hongo a la planta se ha descartado debido a que no se detecta carbono marcado en la parte aérea de la planta hospedadora cuando se añade ^{13}C -acetato en el medio donde se desarrolla el hongo (Fitter *et al.*, 1998). No se conocen las proteínas transportadoras que controlan el paso de NH_4^+ a través de la membrana plasmática del hongo hacia las interfases simbióticas. Se ha propuesto que pueden estar involucradas proteínas similares a las Ato3 (del inglés, ammonia transporter outwards) de levaduras, que funcionan como antiportadores NH_4^+/H^+ localizados en la membrana plasmática. Alternativamente, o simultáneamente, otros mecanismos que podrían mediar

el paso de NH_4^+ hacia la matriz interfacial serían la difusión pasiva a favor de gradiente de NH_3 o bien la fusión y descarga de vacuolas ricas en NH_4^+ con la membrana plasmática del hongo en contacto con las interfases simbióticas (Chalot *et al.*, 2006; Ferrol y Pérez-Tienda, 2009). El paso del NH_4^+ a través de la membrana vegetal también podría estar mediado por determinados canales, como las acuaporinas, y por transportadores dependientes de voltaje, como son los transportadores de K^+ (Chalot *et al.*, 2006; Ferrol y Pérez-Tienda, 2009). Recientemente, se han identificado transportadores de amonio específicos de la simbiosis que se expresan en células colonizadas por arbusculos en plantas de *L. japonicus* (Guether *et al.*, 2009b), *M. truncatula* (Gomez *et al.*, 2009) y soja (Kobae *et al.*, 2010b) y que serían los responsables de la absorción del N que le llega a la planta por la vía micorrícica.

2.14.- Poblaciones de HMA en ecosistemas naturales

El mayor beneficio desarrollado por los HMA nativos, se enfoca en el incremento de la nutrición, especialmente de fósforo. De especial relevancia, es el hecho que los HMA participan en la adquisición de nutrimentos que generalmente se encuentran localizados espacialmente en micrositos, así en Raíces de *Agropyron desertorum* colonizadas por HMA nativos exploraron mayores volúmenes de suelo, teniendo acceso a fuentes de P localizadas en estos micrositos. Cui y Caldwell (1996) mencionaron que las hifas extraradicales desarrollaran un papel importante en la detección y adquisición de P. En el caso de los suelos áridos los HMA nativos ofrecen un incremento en la nodulación y/o fijación biológica de nitrógeno en leguminosas. Carpenter y Allen (1998) observaron que *H. Boreale* inoculadas con HMA nativos y *Rhizobium* presentaron mayor biomasa foliar, follaje, contenido de N y P en parte aérea y supervivencia en

comparación con plantas no inoculadas. Adicionalmente, la doble inoculación indujo un efecto sinérgico reflejado en un mayor incremento de P en el tejido de las plantas. Por su parte Herman (2000) mencionó que la simbiosis micorrízica y los múltiples beneficios que las plantas obtienen de los HMA, permite asumir que también podrían influenciar su estado físico, el cual puede ser medido con relación a la fecundidad o superioridad progenitora. Stephenson *et al.* (1998) han mencionado que los niveles de P en los ecosistemas naturales tienen repercusión en la capacidad reproductiva de las plantas y la interacción de este elemento con la simbiosis micorrízica arbuscular e influye en el incremento de la producción del polen (número de flores y/o número de granos de polen por la flor). Además, mencionan que existe relación entre la presencia de HMA y las características del polen (velocidad de germinación, tasa de crecimiento del tubo polínico y/o con la habilidad del polen para fertilizar óvulos cuando mezclas de polen son depositados sobre los estigmas). No obstante, los estudios relacionados con esta hipótesis son pocos. Sin embargo los estudios que existen proveen información interesante, como la de Stanley *et al.* (1993) quienes reportaron que la inoculación con HMA nativos en *Abutilon theophrasti* incremento el crecimiento vegetativo, floración, fructificación y rendimiento de semillas, y con mayor contenido de fósforo. Beena *et al* (2000) reportaron que los HMA nativos influyen y favorecen el desarrollo exitoso de *Ipomoeae pes-caprea* en dunas. Mientras que Newsham *et al.* (1994) mostraron que plantas colonizadas por HMA nativos presentaron mayor protección contra organismos patogénicos y esto incremento la fecundidad de sus hospedantes. Finalmente Koide y Lu (1995), mostraron que hay mejoramiento de crecimiento a corto plazo en las semillas producidas de plantas micorrizadas. Esta propiedad podría ser relevante en plantas

anuales desarrollándose en zonas áridas las cuales depende de una rápida germinación y crecimiento cuando hay condiciones ambientales adecuadas, pero que son de muy poca duración.

2.15.- Micorrizas arbusculares como alternativa a la nutrición mineral del tomate

Los HMA ofrecen prometedoras alternativas, de nutrición para la producción de tomate. La utilización de estos microorganismos se presenta como una biotecnología “limpia” de gran interés, tanto desde el punto de vista económico como ecológico para la agricultura moderna (Rodríguez, 2002). El creciente interés en relación con la utilización de los hongos micorrizógenos viene dado, fundamentalmente, porque la simbiosis micorrízica aumenta de forma marcada la absorción de nutrientes como el nitrógeno, potasio, calcio, zinc, magnesio y especialmente el fósforo, mejora el transporte y la absorción del agua en la planta y contrarresta el ataque de patógenos por la estimulación de los mecanismos de defensa bioquímica. En este sentido (Hernandez *et al*, 2004) encontraron que al inocular *Glomus mosseae* y *Glomus fasciculatum* la calidad de las plántulas de tomate aumenta en fase semillero y esto se deben a que estos hongos son capaces de modificar la arquitectura del sistema radical a través del desarrollo de las hifas en el suelo. De esta forma, transfieren hacia la planta elementos minerales, agua y otras sustancias importantes para el crecimiento vegetativo (Dominiqui, 1998). Además también hacen mención de que las mayores producciones correspondieron a las plantas inoculadas con *Glomus mosseae*, y que por lo tanto, la inoculación con la cepa *Glomus mosseae* sola o combinada con bacterias rizosféricas genera resultados superiores a los alcanzados por las variantes testigos, por lo que recomiendan la inoculación de HMA para mejorar la nutrición de plántulas de tomate.

2.16 Lombricomposta

La lombricultura es una biooxidación biológica que utiliza una entidad transformadora como la lombriz *Eisenia foetida* para transformar todo tipo de material orgánico en humus, y otros productos finales (Morales-Munguía, 2009), por otro lado la lombricomposta es un tipo de fertilizante orgánico con una efectividad, en muchos casos, superior a la de otros abonos orgánicos como los estiércoles naturales. En los últimos años se ha reforzado el estudio de los efectos de su aplicación en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. En estudios a largo plazo, se ha demostrado que su adición produce una disminución significativa de la densidad aparente, un aumento de la estabilidad de los agregados y de la capacidad de retención de agua del suelo (Weber *et al.* 2007), así como un incremento de la concentración de carbono orgánico y de las cantidades totales de nutrientes esenciales para las plantas en comparación con los fertilizantes minerales (Weber *et al.* 2007). La adición de este fertilizante orgánico al suelo incrementa además la concentración de sustancias húmicas de estructura molecular compleja, aumentando por lo tanto la relación ácidos húmicos/ácidos fúlvicos (Nardi *et al.* 2004, Weber *et al.* 2007). Además de modificar las propiedades químicas, la adición de este fertilizante orgánico produce también cambios en las propiedades biológicas del suelo, aumentando la biomasa y la actividad microbiana y modificando distintas actividades enzimáticas (Arancon *et al.* 2005, Ros *et al.* 2006) y la estructura misma de las comunidades microbianas (Ros *et al.* 2006). Bulluck *et al.* (2002) y Nardi *et al.* (2004) observaron que tras la adición de diferentes tipos de lombricomposta, aumentaba la abundancia de microorganismos beneficiosos para el crecimiento vegetal, reduciéndose el número de microorganismos patógenos, y además aumentaba la

actividad biológica de los ácidos húmicos extraídos del suelo con efectos hormonales similares a los de las giberelinas. De acuerdo a (Friedrich ,2001) la lombricomposta es de color café oscuro a negruzco, granulada e inodoro y que su acción combinada permite una entrega inmediata de nutrientes asimilables y un efecto regulador de la nutrición, cuya actividad residual en el suelo llega hasta cinco años, alta carga microbiana (40 mil millones por g seco), que restaura la actividad biológica del suelo, además de ser un fertilizante bio-orgánico activo, que ejerce en el terreno una acción biodinámica y mejora las características organolépticas de las plantas, flores y frutos. Su pH es neutro y se puede aplicar en cualquier dosis sin ningún riesgo de quemar las plantas; la química del humus de lombriz es tan equilibrada y armoniosa que permite colocar una semilla directamente en él, sin ningún riesgo, también este mismo autor comenta, que puede incrementar hasta 300% la producción de hortalizas y otros productos vegetales, puede almacenarse por mucho tiempo sin que se alteren sus propiedades, pero es necesario que mantenga siempre cierta humedad, la óptima es de 40% .

2.17 Beneficios de la lombricomposta

Los principales beneficios de la lombricomposta de acuerdo a (Durán-Umaña *et al*, 2010) son los siguientes.

- Aporta cantidades equilibradas de nutrientes.
- Beneficia al suelo con millones de microorganismos.
- Logra una mejor aireación al modificar la estructura del suelo.
- No existe peligro de sobredosis.
- No tiene vencimiento, ya que a medida que pasa el tiempo es más asimilable.
- Mejora la salud de la planta haciéndola más resistente a plagas.

- Estimula un mayor desarrollo radicular.
- Retiene la humedad en el suelo por mayor tiempo.
- Mejora el pH en suelos ácidos.
- Equilibra el desarrollo de hongos presentes en el suelo.
- Aumenta la producción en los cultivos.
- Actúa como inhibidor de la actividad de muchos pesticidas y fertilizantes.
- Su aplicación disminuye la contaminación de químicos en los suelos.

111.- ARTÍCULO

Crecimiento vegetativo y estado nutrimental de tomate en respuesta a los sustratos orgánicos y la inoculación con consorcios de hongos micorrizicos nativos del norte de México

Oscar Ávila-Peralta^a, Rosalinda Mendoza-Villarreal^{a*}, Luis A. Valdez-Aguilar^a, Armando Hernández-Pérez^a, Antonio Cárdenas-Flores^c y Edmundo Mario Rodríguez Campos^b

^aDepartamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, CP 25315.

^bDepartamento de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, CP 25315.

^cDepartamento de Plásticos en la Agricultura, Centro de Investigación en Química Aplicada, Saltillo, Coahuila, C.P. 25294.

*Autor de correspondencia. Correo electrónico. rosalindamendoza@hotmail.com

RESUMEN

La función principal de los hongos micorrízicos es facilitarle a la planta la absorción de agua, fósforo (P) y nitrógeno (N), además de mejorar las propiedades fisicoquímicas del suelo y la formación de agregados por medio de la adhesión de partículas debida a una proteína exudada por el micelio llamada glomalina. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de consorcios de micorrizas nativas (CN1 y CN2) y comerciales (*Rhizophagus irregularis*) combinadas con un sustrato a base de lombricomposta o turba ácida sobre el desarrollo de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* cv. Rio Grande).

El diseño experimental fue un bloques completos al azar con un arreglo factorial de 2x4, con 8 tratamientos y 6 repeticiones, cada repetición consistió de un contenedor con una planta. Se aplicó 1 gr de micorriza comercial (500 ea g⁻¹), mientras que la aplicación de suelo nativo fue de 100 g (500 ea g⁻¹) por planta. Las variables de altura de planta, diámetro de tallo, longitud de raíz, peso seco de raíz, peso seco de la parte aérea y total de planta fueron afectadas por los sustratos y hongos y por la interacción entre estos factores. El porcentaje de micorrización también fue afectado por la interacción, las raíces de plantas desarrolladas en lombricomposta y turba ácida e inoculadas con CN1 tuvieron el mayor porcentaje de micorrización, para el primer muestreo, asimismo, las plantas desarrolladas en turba ácida mostraron una disminución en el porcentaje de micorrización comparadas con aquellas desarrolladas en lombricomposta. La concentración de los nutrimentos disminuyó en comparación con el testigo a excepción de nitrógeno.

Palabras clave: fósforo, micorrización, nitrógeno, lombricomposta, *Solanum lycopersicum*, turba ácida.

ABSTRACT

Mycorrhizal fungi supply water, phosphorus (P) and nitrogen (N) to the plants, and improve the physicochemical properties of the soil through the formation of aggregates by adhesion of soil particles. In the present study, the response of tomato (*Solanum lycopersicum* cv. Rio Grande) to the inoculation of native (in consortium) and commercial mycorrhizal fungi was evaluated in combination with a sphagnum peat- or vermicompost-based growing medium. Plant height, stem diameter, root length, root dry weight, and dry weight of shoot and total plant were affected by the interaction between

the substrates and fungi inoculation. The roots of plants developed in vermicompost or sphagnum peat and inoculated with the native mycorrhizal consortium fungi exhibited the highest mycorrhization while the plants developed in sphagnum peat showed decreased colonization compared with those developed in vermicomposting. Concentration of nutrients decreased compared to the control, except for nitrogen.

Keywords: phosphorus, mycorrhization, nitrogen, *Solanum lycopersicum*, sphagnum moss, vermicompost.

INTRODUCCIÓN

Una adecuada nutrición de las plantas cultivadas no necesariamente se logra con la aplicación de fertilizantes químicos, pues existen otras formas que aportan el mismo efecto pero que tienen un menor impacto ambiental y son factibles de sostener una producción agrícola que satisfaga la creciente demanda de alimentos a nivel mundial. A raíz de esto surgen insumos agrícolas a base de microorganismos y materiales de origen orgánico, como los hongos micorrízicos y la lombricomposta, opciones que constituyen lo que se ha convenido en llamar agricultura sostenible⁴⁰. En este contexto, existe un interés creciente en el manejo racional de los microorganismos benéficos del suelo y de los abonos orgánicos debido al amplio espectro de actividades que desarrollan, ya que ejercen una gran influencia sobre la fertilidad del mismo y sobre el desarrollo y protección contra microorganismos patógenos de las plantas. La función principal de los hongos micorrízicos es facilitar a la planta la absorción de agua, fósforo (P) y nitrógeno (N), además de mejorar las propiedades físicoquímicas del suelo y la formación de agregados por medio de la adhesión de partículas debida a una proteína exudada por el

micelio llamada glomalina, además mejora la estructura y estabilidad, aumenta la capacidad de retención de agua y reduce la erosión del suelo²⁰. Los hongos micorrízicos también influyen de manera directa o indirecta en la absorción de otros iones minerales como el potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), hierro (Fe) y manganeso (Mn), promoviendo el crecimiento de las plantas, especialmente en aquellos suelos donde estos nutrientes son escasos³¹. Además, favorecen una mayor tolerancia al déficit hídrico, así como la protección de las raíces contra patógenos a través de diversos mecanismos de acción, entre los que se encuentran: micoparasitismo, lisis enzimática, antibiosis y la competencia por espacio o nutrientes²⁰. La lombricomposta es un abono orgánico que proporciona nutrientes a las plantas; su aplicación incrementa el crecimiento, desarrollo y productividad de una amplia gama de cultivos (leguminosas, cereales, hortalizas, plantas de ornato y flores), lo cual se atribuye a las características físicas y químicas del abono³⁵; también aporta N, P, K, Ca, Mg y carbono¹⁷. Debido a esto, la lombricomposta puede ser usada como medio de crecimiento de especies hortícolas cultivadas en condiciones de invernadero¹⁵. El conocimiento del impacto de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en hortalizas cultivadas en campo abierto es amplio, sin embargo, el efecto de estas en cultivos en invernadero no ha sido estudiado, menos aun si se aplican en combinación con abonos orgánicos como la lombricomposta, una práctica que debe ser incorporada a los sistemas de producción hortícola^{38,14,36}. Algunos reportes señalan que la inoculación de hongos micorrízicos en tomate, aumenta el estado nutricional, el tamaño de fruto y permite un mayor rendimiento^{3,16,38}. Sin embargo, la efectividad del uso de esta tecnología en condiciones de ambientes protegidos depende de la cepa del HMA, de la especie de planta cultivada y de las condiciones de crecimiento¹². Además, las especies de micorrizas

comerciales no tienen la capacidad de colonizar su hospedero porque están en desventaja por la competitividad con los microorganismos del suelo, por lo que es necesario utilizar cepas nativas¹⁰. Por lo anterior, el presente estudio se planteó el objetivo de evaluar el efecto de un consorcio de micorrizas nativas y comerciales (*Rhizophagus irregularis*) combinadas con lombricomposta y turba ácida sobre el desarrollo de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Rio Grande.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se estableció en el 2013 en un invernadero de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Saltillo, Coahuila, México, cuyas coordenadas geográficas son: latitud N 25° 27' y longitud O 101°02' a una altura de 1610 msnm. La temperatura mínima y máxima promedio durante el periodo experimental fue de 12 y 34°C respectivamente, mientras que la humedad relativa osciló entre 25% y 72%.

Se utilizaron plántulas de tomate cv. Rio Grande de 15 cm de altura, las cuales fueron trasplantadas en contenedores de polietileno negro de 5 L de volumen. Los contenedores se llenaron con un sustrato a base de lombricomposta, turba ácida, arena y suelo; el suelo fue previamente esterilizado a 120°C durante 15 min en autoclave por tres ocasiones. Antes del trasplante se inoculó con 1 g (500 esporas) del hongo micorrízico comercial (*Rhizophagus irregularis*) (Ri), mientras que los hongos micorrízicos nativos se inocularon 100 g (500 esporas). Los hongos micorrízicos nativos fueron obtenidos en dos tipos de suelo: suelo bajo en materia orgánica (1%) (consorcio nativo 1, CN1) y suelo con alta materia orgánica (5%) (consorcio nativo 2, CN2). Se recolectaron 3 kg de suelo con raíces de plantas para la extracción de esporas de estos hongos por el método de tamizado húmedo y decantación²². El CN1 estuvo conformado por esporas de

diferente diámetro polar y meridional 209.31 y 189.89, 110.56 y 105.49, 129.13 y 142.63, 194.11 y 174.70 μm , mientras que en el CN2 estas fueron 93.27 y 186.52, 229.56 y 275.98, 124.06 y 124.91, 222.72 y 179.04 μm . El diámetro de las esporas se midió mediante la utilización de un software para windows Dino Capture 2.0. Versión 1.3.8 y con la ayuda de un microscopio óptico.

Los tipos de micorrizas se evaluaron en combinación con dos tipos de sustrato que contenían la misma proporción de suelo (10%) y arena (30%), mejorados con la adición de lombricomposta o turba ácida (60%). Se analizó la lombricomposta (pH= 8.4, CE= 2.6 dS/cm^{-1} , materia orgánica= 5%, Densidad aparente= 0.67 g cm^{-3} , N= 0.62 meq L^{-1} , P= 0.6 meq L^{-1} y K= 1.3 meq L^{-1}) y el agua de riego (Ca= 4.2, Mg= 3.9, Na= 0.54, Cl= 1.38, SO_4 = 5.9 y HCO_3 = 5.9 meq L^{-1} respectivamente) considerando las propiedades químicas de la mismas para la formulación de las soluciones nutritivas (SN). Los tratamientos evaluados se presentan en el Cuadro 1; para los tratamientos testigo se empleó la SN de Steiner⁴⁴ al 100%, mientras que a los tratamientos inoculados se empleó esta misma solución pero al 50%.

Cuadro 1. Composición del sustrato y aplicación de hongos micorrízicos comerciales y nativos aplicados en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) Var. Rio Grande en condiciones de invernadero.

Tratamientos	Composición del sustrato (% v/v)
1. Consorcio nativo 1 CN1	10 suelo+30 arena+60 turba ácida
2. Consorcio nativo 2 CN2	10 suelo+30 arena+60 turba ácida
3. <i>Rizophagus irregulariz</i> (Ri)	10 suelo+30 arena+60 turba ácida
4. Testigo 1	10 suelo+30 arena+60 turba ácida
5. Consorcio nativo 1 CN1	10 suelo+30 arena+60 lombricomposta
6. Consorcio nativo 2 CN2	10 suelo+30 arena+60 lombricomposta
7. <i>Rizophagus irregularis</i> (Ri)	10 suelo+30 arena+60 lombricomposta
8. Testigo 2	10 suelo+30 arena+60 lombricomposta

Testigo 1 y Testigo 2, sin inocular y nutridos con la solución de Steiner.

Los riegos se efectuaron manualmente aplicando 1 L de SN por planta, logrando mantener una fracción de lixiviado de 25%; los riegos se efectuaron cada cuatro días con el objetivo de inducir un estrés hídrico de las plantas con la finalidad de aumentar la micorrización²⁸.

El experimento finalizó a los 80 días después del trasplante. Para determinar el porcentaje de micorrización se realizaron dos evaluaciones (50 y 80 días después de trasplante), utilizando cuatro plantas por cada tratamiento, a las cuáles se separó la parte aérea y la raíz; al sistema radicular se le eliminó el exceso de sustrato con agua potable, para posteriormente determinar el porcentaje de micorrización. Los órganos de la planta separados fueron introducidos en un estufa de secado a 65°C por 72 horas para el posterior registro de peso seco utilizando una balanza digital marca VE-1000. Otras variables evaluadas fueron altura de planta y diámetro de tallo. Antes de determinar el

porcentaje de micorrización las raíces se colocaron en tubos de ensayo adicionando una solución de KOH al 10% por 10 minutos a 60°C, posteriormente se agregó H₂O₂ al 10% para eliminar los residuos de KOH, se dejaron en reposo por 5 minutos y finalmente se adicionó Lactoglicerol para la tinción de las raíces³⁹. El porcentaje de micorrización se obtuvo a partir de las raíces teñidas; se segmentaron las raíces por 1 cm de longitud, colocando 10 segmentos en un portaobjetos, con tres repeticiones, para su posterior observación en microscopio óptico (10x y 40x). El porcentaje de micorrización se obtuvo con la siguiente formula: % de micorrización = (N_o. de campos infectados / N_o total de campos observados) × 100⁴⁵. Para el análisis de la concentración de N, P y K fue en raíz y parte aérea, los tejidos se digitaron en una solución de 3:1 de HNO₃:HClO₄ y 40 ml de agua desionizada, y las muestras digeridas fueron analizadas para N con el procedimiento de micro-Kjeldahl⁸, mientras que la concentración de P y K mediante el procedimiento del molibdato de amonio y absorción atómica, respectivamente⁵. El diseño experimental utilizado fue un bloques completos al azar con un arreglo factorial (2 x 4), con 8 tratamientos y 6 repeticiones. La unidad experimental consistió de un contendor con una planta, separado a cada 25 cm. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias fue de acuerdo con Tukey ($P \leq 0.05$) utilizando el programa SAS (Statistical Analysis Systems) versión 9.2.

RESULTADOS

En general, el crecimiento de las plantas y la micorrización fueron incrementadas cuando se utilizó un sustrato a base de lombricomposta, aunque tal respuesta estuvo afectada por la interacción con el tipo de hongos micorrízicos inoculados (Cuadro 2). La micorrización en plantas desarrolladas en lombricomposta y turba ácida fue mayor con

la inoculación del CN1 en el muestreo a los 50 días (Figura 1A), además de que en plantas testigo esta fue mayor cuando se desarrollaron en el sustrato a base de lombricomposta. En el segundo muestreo la tendencia fue similar, a excepción de las plantas crecidas con turba ácida, pues la mayor colonización fue con el CN2 (Figura 1B). En plantas crecidas con lombricomposta no se presentó efecto de los diferentes hongos micorrízicos inoculados en la altura, mientras que en aquellas desarrolladas en turba ácida se mostró una disminución con el CN1 (Figura 2A). Este mismo efecto se presentó para el diámetro de tallo en plantas crecidas en el sustrato a base de lombricomposta, pero en aquellas en turba ácida e inoculadas se presentó una disminución en el diámetro de tallo (Figura 2B) y longitud de la raíz (Figura 2C); esta última independientemente del tipo de sustrato utilizado, aunque más marcado en turba ácida.

Cuadro 2. Efecto de los sustratos orgánicos y hongos micorrízicos inoculados sobre el crecimiento y micorrización en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Rio Grande cultivado en invernadero.

Sustratos	Altura de planta cm	Diámetro de tallo mm	Longitud de raíz cm	1er. Muestreo Micorrización %	2do. Muestreo Micorrización %	Peso seco de aéreo (g	Peso seco de raíz (g)	Peso seco total (g planta ⁻¹)
Lombricomposta	106.94a	9.31a	50.53a	32.62a	30.84a	49.54a	22.00a	71.53a
Turba ácida	87.75b	8.91b	32.48b	31.80 ^a	24.20b	28.15b	14.97b	43.12b
ANOVAP	≤0.001	≤0.01	≤0.001	Ns	≤0.001	≤0.001	≤0.001	≤0.001
Hongos								
Testigo	100.62a	9.65a	52.05a	9.75c	11.26d	46.39a	22.21a	68.59a
CN1	92.37b	8.97b	37.71c	46.17a	38.05a	39.76b	18.76b	58.50b
CN2	100.0a	9.02b	36.80c	34.68b	35.59b	37.65b	17.87c	55.53b
Ri	96.37ab	8.79b	39.46b	38.25b	25.17c	31.57c	15.09d	46.67c
ANOVA P	≤0.001	≤0.003	≤0.001	≤0.001	≤0.001	≤0.001	≤0.001	≤0.001
Interacción P	≤0.001	≤0.01	≤0.001	≤0.001	≤0.001	≤0.001	≤0.001	≤0.001
CV (%)	3.23	4.60	2.39	8.93	6.13	6.0	2.21	4.02

0.01, 0.001= significativo, CN1= Consorcio nativo1, CN2= Consorcio nativo2, Ri= *Rhizophagus irregularis*, ANOVA= Análisis de varianza, Interacción = Sustrato x Hongos micorrícicos, CV= Coeficiente de variación. Promedios seguidos de la misma letra indica diferencias no significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($P\alpha \leq 0.05$).

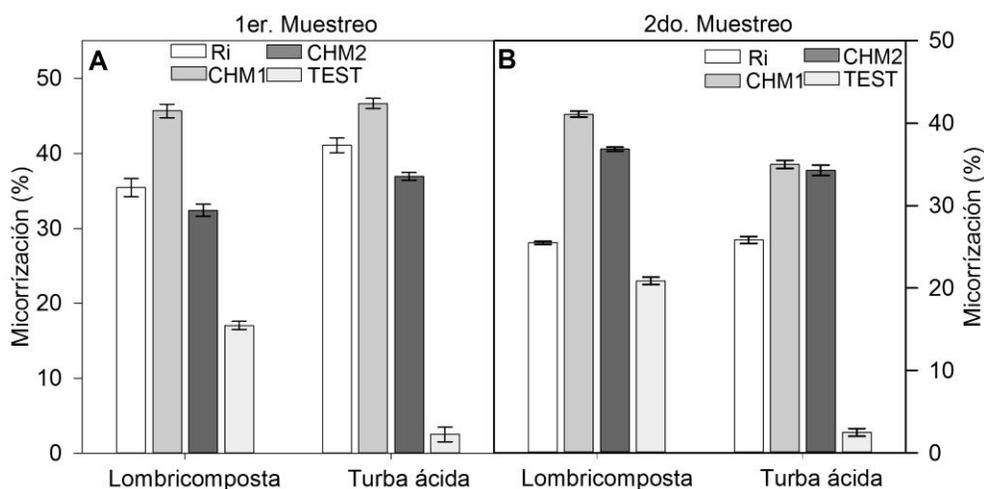


Figura 1. Efecto de los sustratos orgánicos y de las micorrizas inoculadas en la micorrización en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Rio Grande. Las barras indican el error estándar de la media. Ri= *Rhizophagus irregularis*, CN1= Consorcio nativo 1, CN2= Consorcio nativo 2, TEST= Testigo.

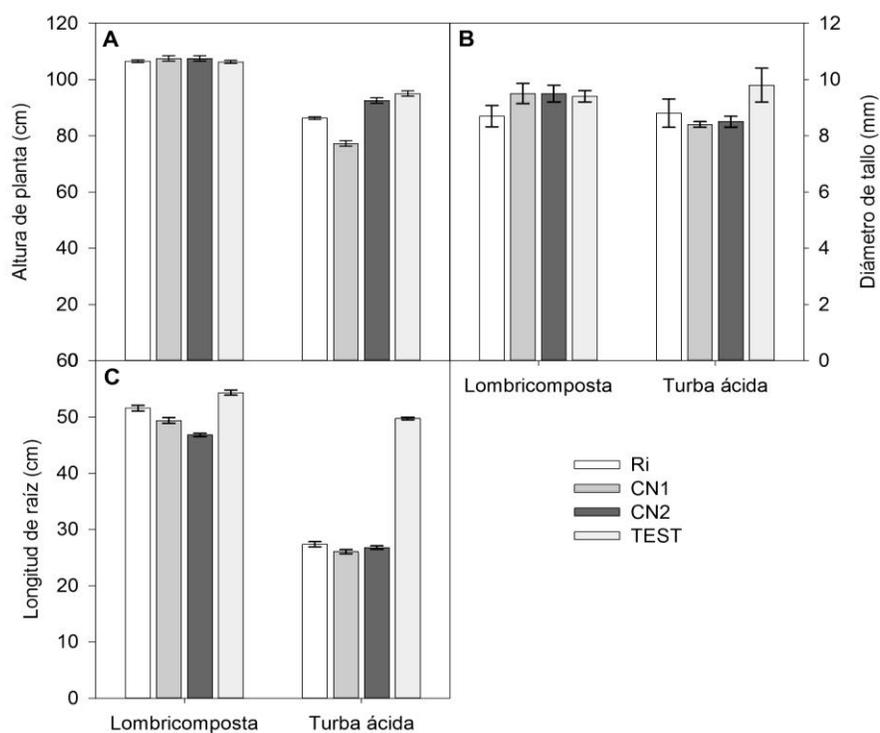


Figura 2. Efecto de los sustrato orgánicos y la inoculación micorrízica en la altura,

diámetro de tallo y longitud de raíz en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Rio Grande. Las barras indican el error estándar de la media. Ri= *Rhizophagus irregularis*, CN1= Consorcio nativo 1, CN2= Consorcio nativo 2, TEST= Testigo.

Similar a las variables de crecimiento, la producción de biomasa fue mayor en plantas crecidas en el sustrato a base de lombricomposta, pero esta respuesta fue afectada por la interacción con el tipo de hongos micorrízicos (Cuadro 2). Las plantas crecidas en lombricomposta obtuvieron mayor peso seco de raíz con la inoculación del CN1, CN2 y en las plantas Testigo (Figura 3A), mientras que en la parte aérea (Figura 3B) y total (Figura 3C) solo fue mayor en plantas inoculadas con el CN1. Las plantas desarrolladas en turba ácida se presentaron una disminución en la producción de la biomasa de raíz, parte aérea y total en las plantas inoculadas (Figura 3A-C).

La concentración de N, P y K fue mayor en plantas crecidas en el sustrato a base de lombricomposta, con excepción del N en la raíz, sin embargo, esta respuesta fue afectada por la interacción con la inoculación micorrízica (Cuadro 3). La concentración de N en la raíz no mostró cambios por efecto de la micorriza inoculada en plantas crecidas con lombricomposta, mientras que en las crecidas en turba ácida se registró una mayor concentración al ser inoculadas con Ri (Figura 4A). La concentración de N en la parte aérea fue mayor en las plantas no inoculadas, ya sea en las desarrolladas en lombricomposta o turba ácida, aunque el efecto fue más marcado en las desarrolladas en este último (Figura 4B). La concentración de P en la raíz y parte aérea fue mayor en aquellas plantas no inoculadas, mientras que en plantas inoculadas disminuyó, independientemente del tipo de sustrato, pero este efecto fue más marcado en las plantas crecidas en turba ácida (Figura 4C-D). En plantas crecidas con lombricomposta aumentó

la concentración de K en las raíces de aquellas inoculadas con el CN2 y las no inoculadas (Figura 4E), mientras que las plantas desarrolladas en turba ácida fue mayor la concentración de este nutrimento con la inoculación del CN1 y CN2 (Figura 4E). En la parte aérea se incrementó la concentración de K en plantas inoculadas con Ri en ambos tipos de sustrato (Figura 4F).

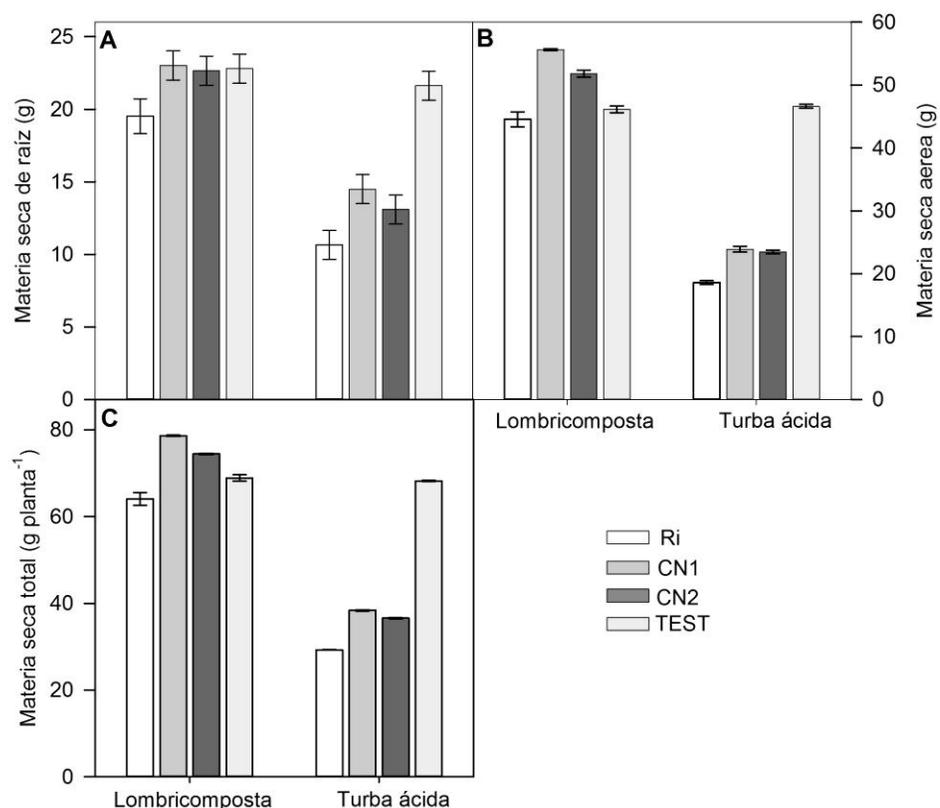


Figura 3. Efecto de los sustratos orgánicos y de las micorrizas inoculadas en la materia seca de raíz y parte aérea de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Rio Grande. Las barras indican el error estándar de la media.

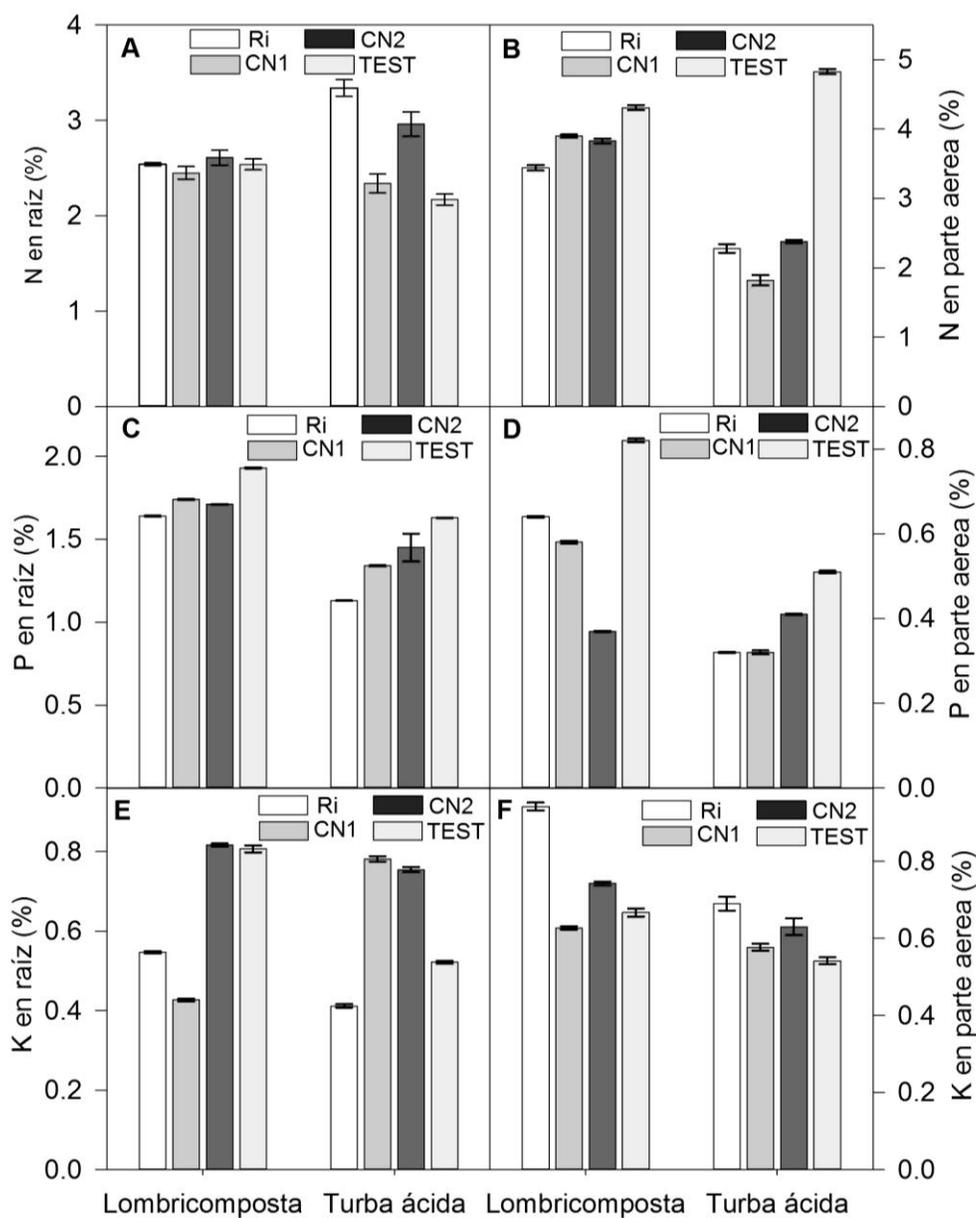


Figura 4. Efecto de los sustratos orgánicos y de las micorrizas inoculadas en la concentración de N, P y K en la raíz y parte aérea de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Rio Grande. Ri= *Rhizophagus irregularis*, CN1= Consortio nativo 1, CN2= Consortio nativo 2, TEST= Testigo. Las barras indican el error estándar de la media.

Cuadro 3. Efecto de los sustratos orgánicos y hongos micorrízicos inoculados en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Rio Grande sobre la concentración de nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K).

Sustratos	N		P		K	
	-----%-----					
	Raíz	Parte aérea	Raíz	Parte aérea	Raíz	Parte aérea
Lombricomposta	2.54a	3.87a	1.76a	0.60a	0.65a	0.75a
Turba ácida	2.70a	2.85b	1.39b	0.39b	0.62b	0.61b
ANOVA <i>P</i>	Ns	≤0.001	≤0.001	≤0.001	≤0.001	≤0.001
Hongos						
Testigo	2.56b	4.57a	1.78 ^a	0.67a	0.66b	0.60c
CN1	2.40b	2.86b	1.54c	0.45c	0.60d	0.60c
CN2	2.78ab	3.10b	1.58b	0.39d	0.79a	0.69b
Ri	2.94a	2.91b	1.38d	0.48b	0.48d	0.82a
ANOVA <i>P</i>	≤0.003	≤0.001	≤0.001	≤0.001	≤0.001	≤0.001
Interacción <i>P</i>	≤0.01	≤0.001	≤0.001	≤0.001	≤0.001	≤0.001
CV (%)	12.48	5.65	1.05	2.24	3.57	5.37

ns, 0.01 y 0.001= No significativa y significativo, CN1= Consorcio nativo1, CN2= Consorcio nativo2, Ri= *Rhizophagus irregularis*, ANOVA= Análisis de varianza, Interacción= Sustratos x Hongos, CV= Coeficiente de variación. Las letras a, b, c y d son las categorías obtenidas de la comparación de medias con Tukey ($p \alpha \leq 0.05$).

El aumento en la micorrización estuvo relacionado con un incremento en la altura de la planta (Figura 5A) y la concentración de P (Figura 5B), sin embargo, cuando el porcentaje de este fue superior a 35% y 20%, respectivamente, ambos tendieron a disminuir. Asimismo, el aumento en la micorrización estuvo asociado con una

disminución en la concentración de N (Figura 5C) y un aumento en la concentración de K (Figura 5D).

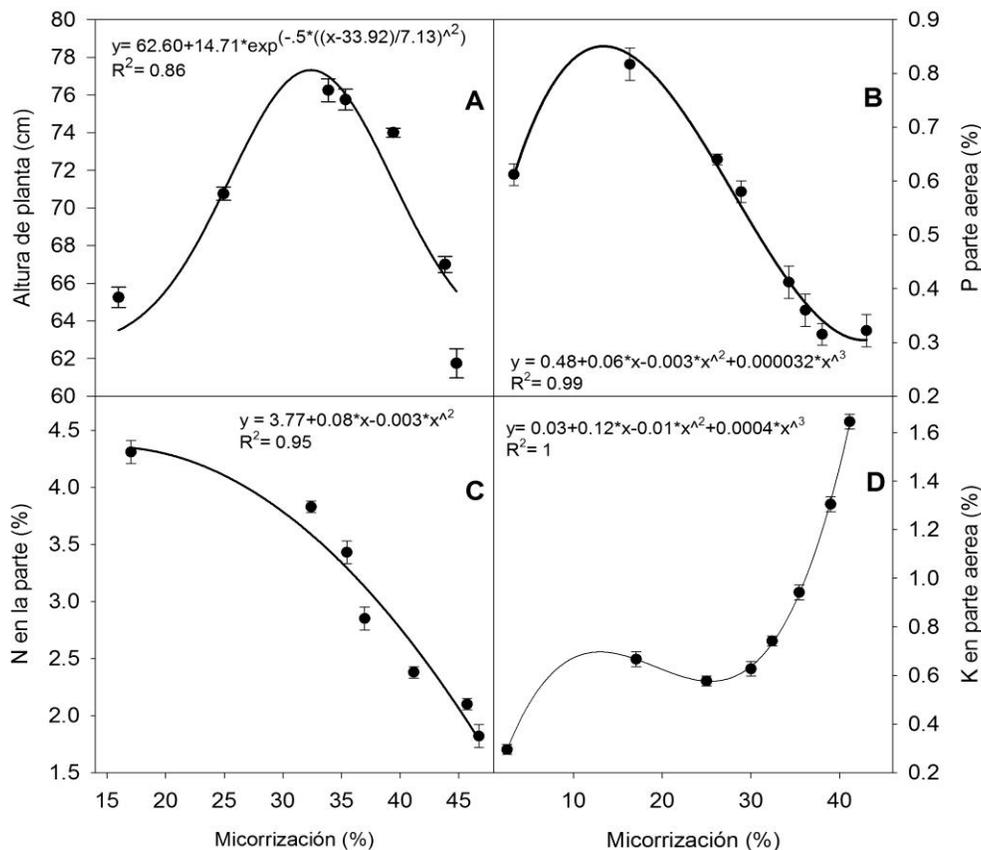


Figura 5. Efecto del porcentaje de micorrización sobre la altura, concentración de P, N y K en el tejido aéreo de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Rio Grande. Las barras indican el error estándar de la media.

DISCUSIÓN

Una mayor micorrización se registró con la inoculación del CN1 tanto en etapas tempranas como en las etapas más avanzadas del desarrollo de las plantas. Sin embargo, en el primer muestreo se registró una mayor micorrización en comparación con el muestreo realizado en etapas más avanzadas, lo que sugiere la necesidad de una segunda

aplicación del inoculo. Lo anterior concuerda con lo reportado por Velasco *et al.*⁵⁰, quienes señalan que la mayor colonización micorrízica en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) se observó a los 60 días después del trasplante. En las plantas testigo crecidas en un sustrato a base de lombricomposta, a pesar de no haber sido inoculadas, registraron una mayor colonización que aquellas crecidas con turba ácida, lo que indica que este sustrato facilita la colonización, coincidiendo con los resultados reportados por Velasco *et al.*⁵⁰, probablemente debido a la presencia de sustancias húmicas en el mismo ya que se ha reportado que el establecimiento de los hongos micorrízicos arbusculares y la funcionalidad de la simbiosis son favorecidas por la aplicación de ciertas cantidades de sustancias húmicas^{41,25}. Se ha reportado que la lombricomposta está compuesta por bacterias y hongos con capacidad para degradar compuestos como lignina y hemicelulosa², sin embargo no se ha señalado que la lombricomposta contenga esporas de hongos micorrízicos, por lo que la micorrización puede ser debido a una contaminación por el agua de riego; por otra parte, la turba ácida si puede contener hongos micorrízicos como ya fue señalado por Callejas-Ruíz *et al.*¹³. La menor colonización en plantas crecidas en el sustrato a base de turba ácida puede ser debido a que este sustrato tiene alta capacidad de retención de agua, la cual puede ser de hasta 90%¹, implicando una menor aireación en la zona de raíces y por lo tanto una menor oxigenación; algunos reportes señalan que las concentraciones de oxígeno idóneas están entre 12% y 16% para la micorrización y expresión benéfica de la simbiosis en el crecimiento de la planta¹³. El aumento del porcentaje de micorrización en plantas inoculadas con el CN1 comparando con el Ri puede ser debido a que los consorcios de hongos nativos tiene la habilidad de establecer relaciones simbióticas con la microbios del medio y de las condiciones edafoclimaticas, mientras que las especies comerciales

(Ri) han pasado por un proceso de selección y con esto pierden la capacidad de adaptarse al medio; lo anterior concuerda con lo reportado por Jargeat *et al.*²⁶, quienes señalan que los hongos micorrízicos están relacionados con bacterias endosimbióticas con forma de bacilos y no pueden desarrollar una fase de vida independiente, por lo tanto la eliminación de estas bacterias compromete seriamente el desarrollo y crecimiento pre-simbiótico del hongo³². Lo anterior sugiere la importancia de seleccionar cepas de hongos micorrízicos nativos para dirigir a una condición específica con el fin de tener resultados satisfactorios⁴⁶.

La simbiosis micorrízica favorece la absorción de P y N, provocando un mayor crecimiento de las plantas^{50,49}, lo cual fue corroborado en el presente estudio cuando las plantas de tomate se inocularon con los hongos micorrízicos en combinación con un sustrato cuya composición estuvo a base de lombricomposta. El CN1 y el CN2 aumentaron la biomasa total en las plantas desarrolladas con lombricomposta, debido principalmente al aumento en la biomasa aérea, lo cual puede ser debido a que los hongos micorrízicos en combinación con la lombricomposta aumentan la actividad fotosintética, como fue reportado por Velasco *et al.*⁵⁰. Similares resultados fueron descritos en plátano (*Musa paradisiaca*) clon Hórtón⁶ y en maíz (*Zea mays* L.)⁵² ya que se obtuvo una mayor materia seca total con las micorrizas nativas y micorriza comercial, respectivamente. La disminución de la acumulación de biomasa en las plantas inoculadas con los consorcios nativos y desarrollados en turba ácida puede ser debido a que estas recibieron fertilización química, afectando la actividad de los hongos micorrízicos; esto coincide con lo señalado por Ortega-Larocea *et al.*³⁷, quienes reportan que los hongos micorrízicos son afectados significativamente cuando son empleados en condiciones de alta fertilidad, como es el caso de los cultivos hidropónicos.

A pesar del efecto positivo sobre la acumulación de biomasa aérea y total, otros parámetros de crecimiento como la altura y el diámetro del tallo en plantas desarrolladas en el sustrato a base de lombricomposta no fueron afectadas por los hongos micorrízicos, o bien fueron reducidos, como la longitud de las raíces. Estos resultados están en contraste con los reportados por Velasco *et al.*⁵⁰, quienes señalan que en las plantas de tomate de cáscara fue mayor la altura en aquellas crecidas con lombricomposta e inoculadas con *Glumus intraradices*, y por Alvarado *et al.*⁴ en plantas de tomate cv. Cid inoculadas con *Rhizophagus irregularis*.

Las plantas desarrolladas en turba ácida mostraron una disminución en la altura de planta y longitud de la raíz cuando se inocularon con las micorrizas nativas o con Ri. La disminución de la longitud de raíz puede ser debido a una mayor síntesis de hormonas provocada por la misma planta y por el hongo, ya que son importantes en las primeras etapas de la colonización, como fue reportando por Foo *et al.*²¹ y Bucher *et al.*⁹, quienes señalan que las fitohormonas interactúan para regular el establecimiento y funcionamiento de la simbiosis. Por su parte Pozo *et al.*⁴² reportan que algunas hormonas controlan los primeros pasos de la etapa pre-simbiótica, mientras que otras regulan las adaptaciones morfológicas de la raíz para que el hongo se adapte y controle la colonización y funcionalidad. Por otra parte los salicilatos, etileno y citoquininas tienen efectos negativos en los primeros pasos de la penetración o colonización de la raíz por el hongo²¹.

Es probable que también las plantas desarrolladas en el sustrato a base de lombricomposta, la disminución en el crecimiento de raíz pudo ser debido a una menor concentración de P y K en este órgano, nutrimentos esenciales para su desarrollo¹⁸, en tanto que la mayor acumulación de biomasa en la parte aérea puede explicar la

disminución en la concentración de N y P debido a un efecto de dilución. Sin embargo, estos resultados también pueden deberse a que la lombricomposta tuvo un aporte medio de P, pues se ha reportado que la aplicación de altas dosis de este elemento, así como de N, tienen efectos negativos en la adquisición de N, P, K, Fe, Mn y Zn en las plantas micorrizadas¹¹. En contraste a nuestros resultados, Wang *et al.*⁵¹ señalan que en plántulas de pepino inoculadas con tres hongos micorrízicos arbusculares se aumentó la concentración de N y P en las raíces y de magnesio (Mg), cobre y zinc en los brotes.

Una micorrización entre el 20% y 35% afectó negativamente la altura y la concentración de P y N en la parte aérea, probablemente debido a que las plantas micorrizadas tienen un efecto negativo por la síntesis de estrigolactonas, la cual es sintetizada en la etapa presinbiótica y es capaz de inhibir la ramificación del tallo^{24,47} y afectar al crecimiento de la raíz mediante la inducción de la elongación y disminución en el número y longitud de los pelos radicales^{43,29}. La disminución en la concentración de P pudo ser por efecto negativo de la fertilización química, ya que se ha reportado que los hongos micorrízicos son afectados por los materiales de síntesis³⁴, además el fosfato como fertilizante sintético debe ser previamente hidrolizado antes de ser absorbido por la planta³³; bajo este contexto es posible sugerir que los hongos micorrízicos podrían actuar en forma más eficiente sobre las formas de P de menor labilidad⁷, así como también al P asociado de tipo orgánico sin ninguna presencia de sustancias sintéticas. La disminución de la concentración de N por efecto de la micorrización resulta extremadamente interesante destacar pues el efecto de los hongos micorrízicos no siempre será benéfico, ya que la respuesta de la planta puede variar en función del grado de dependencia entre los endófitos y la planta hospedante, así como al grado de colonización¹⁹. Por otra parte se ha indicado que la variación de las condiciones ambientales influye en la fisiología de

las plantas y por lo tanto en la efectividad micorrízica, por lo que es probable que aunque se observe micorrización, no todas las estructuras fúngicas estén activas, afectando la traslocación de nutrientes⁴⁸. Finalmente, la micorrización estuvo asociada al incremento de la concentración de K, por lo que nuestros resultados concuerdan con Kalyanne *et al.*³⁰ y George *et al.*²³.

CONCLUSIÓN

El mejor sustrato para el desarrollo de las plantas de tomate fue el que contenía lombricomposta, pues en la turba ácida se disminuyó el crecimiento, presentándose este mismo efecto en la concentración de N, P y K. El consorcio nativo 1 en comparación con el consorcio nativo 2 y Ri aumentaron la micorrización, la biomasa total y la concentración de K en la raíz. La disminución de la concentración de N, P y K en la parte aérea es debido a un efecto de dilución pues estas plantas fueron las que crecieron más.

LITERATURA CITADA

1. Adams P. Aspectos de nutrición mineral en cultivos sin suelo en relación al suelo, In: Tratado de Cultivo sin Suelo. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 2004. p. 95-104.
2. Aira M, Monroy F, Domínguez J. *Eisenia fetida* (Oligochaeta: Lumbricidae) modifies the structure and physiological capabilities of microbial communities improving carbon mineralization during vermicomposting of pig manure. *Microbial Ecology*. 2007; 54: 662-671.
3. Al-Karaki GN. Nursery inoculation of tomato with arbuscular mycorrhizal fungi and subsequent performance under irrigation with saline water. *Sci. Hort*. 2006; 109:1-7.
4. Alvarado CM, Díaz FA, Peña del Río M de los Á. 2014. Productividad de tomate mediante micorriza arbuscular en agricultura protegida. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 2014; 5(3): 513-518.
5. A.O.A.C. (Association of Oficial Analitical Chemists). Official methods of analysis.

Washington. 1980; p. 1084.

6. Barrera-Violeth JL, Oviedo-Zumaque LE, Barraza-Álvarez FV. Evaluación de micorrizas nativas en plantas de plátano Hartón (*Musa* AAB Simmonds) en fase de vivero. *Acta Agronómica*. 2012; 61(4): 315-324.

7. Borie F, Rubio R. Total an organic phosphorus in Chilean volcanic soils. *Gayana Botanica*. 2003; 60: 69-73.

8. Bremner JM. Total nitrogen. In: Sparks, DL (Ed.). *Methods of soil analysis. Part II. Chemical Methods*. American Society of Agronomy. Soil Science Society of America. Madison, WI. USA. 1996. p. 1085-1086.

9. Bucher M, Hause B, Krajinski F, Kuster H. Through the doors of perception to function in arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytologist*. 2014; 204: 833-840.

10. Caldera E, Acosta K, Garcés G, Petit B, Gutiérrez W, Pérez C. Response of a catatumbo variety bean crop (*Vigna unguiculata* L. Walp) to native and commercial mycorrhizal inoculants under controlled conditions. *REDIELUZ*. 2013; 3(1 y 2): 157-164.

11. Castro A, Henríquez C, Bertsch F. Capacidad de suministro de N, P y K de cuatro abonos orgánicos. *Agronomía Costarricense*. 2009; 33(1):31-43.

12. Corkidi L, Allen EB, Merhaut D, Alle MF, Downer J, Bohn J, Evans M. Assessing the infectivity of commercial mycorrhizal inoculants in plant nursery conditions. *J. Environ. Hort.* 2004; 22:149-154.

13. Callejas-Ruiz BA, Castillo-González AM, Colinas-León MT, González-Chávez M del C, Pineda-Pineda J, Valdez-Aguilar LA. Sustratos y hongos micorrízicos arbusculares en la producción de nochebuena. *Revista Chapingo. Serie horticultura* 2009; 15(1): 57-66.

14. Carpio AL, Davies FT, Arnold MA. Arbuscular mycorrhizal fungi, organic and inorganic controlled-release fertilizers: effect on growth and leachate of container-grown bush morning glory (*Ipomoea carnea* ssp. *fistulosa*) under high production temperatures. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 2005; 130:131-139.

15. Cruz E, Osorio R, Martínez E, Lozano del Rio J, Gómez A, Sánchez R. Uso de compostas y vermicompostas para la producción de tomate orgánico en invernadero. *Interciencia*. 2010; 35(5): 363-368.

16. Desgan YH, Kusvaran S, Ortas I. Responses of soilless grown tomato plants to arbuscular mycorrhizal fungal (*Glomus fasciculatum*) colonization in re-cycling and open systems. *Afr. J. Biotech.* 2008; 7:3606-3613.
17. Duran L Y, Henriquez C. El vermicompost: su efecto en algunas propiedades del suelo y la respuesta en la planta. *Agronomía Mesoamericana.* 2010; 21(1): 85-93.
18. Ferrol N, Pérez-Tienda J. Coordinated nutrient exchange in arbuscular mycorrhiza. In: Azcón-Aguilar C, Barea JM, Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V. (eds) *Mycorrhizas - functional processes and ecological impact.* Springer-Verlag Berlin, Heidelberg. 2009. p. 73-87.
19. Ferrera-Cerrato R, Alarcón A. Biotecnología de los hongos micorrízicos arbusculares. In: Díaz A, Mayek N. (eds.), *Biofertilización como tecnología sostenible.* Plaza y Valdéz / CONACYT. Mexico. 2008. p. 25-38.
20. Finlay RD. Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *Journal of Experimental Botany.* 2008; 59:1115-1126.
21. Foo E, Ross JJ, Jones WT, Reid JB. Plant hormones in arbuscular mycorrhizal symbioses: an emerging role for gibberellins. *Annals of Botany.* 2013; 111: 769-779.
22. Gerdemann JW, Nicolson HT. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society.* 1963; 46: 235-244.
23. George E, Marschner H, Jackobsen I. Role of arbuscular-mycorrhizal fungi in uptake of phosphorus and nitrogen from soil. *Critical Reviews in Biotechnology.* 1995; 15(3-4): 257-270.
24. Gomez-Roldan V, Fermas S, Brewer PB, Puech-Pagès V, Dun EA, Pillot JP, Letisse F, Matusova R, Danoun S, Portais JC, Bouwmeester H, Bécard G, Beveridge CA, Rameau C, Rochange SF. Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature.* 2008; 455:189-194.
25. Gryndler M, Hrselová H, Sudová R, Gryndlerová H, Řezáčová V, Merhautová, V. Hyphal growth and mycorrhiza formation by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroideum* BEG23 is stimulated by humic substances. *Mycorrhiza.* 2005; 15: 483-488.

26. Jargeat P, Cosseau C, Ola'h B, Jauneau A, Bonfante P, Batut J, Bécard G. Isolation, free-living capacities, and genome structure of 'Candidatus Glomeribacter gigasporarum', the endocellular bacterium of the mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita*. *Journal of Bacteriology*. 2005; 186: 6876-6884.
27. Jimenez-Martinez A, Gonzalez-Chaves MCA, Gutierrez-Castorena MC, Lara-Hernandez ME, Garcia-Cue L. Producción de inoculo micorrizico de *Gigaspora gigantea* en mezclas de sustratos con diferente tamaño de partícula. *Agrociencia*. 2014; 48(3): 239-254.
28. Karaki GN. Nursery inoculation of tomato with arbuscular mycorrhizal fungi and subsequent performance under irrigation with saline water. *Sci. Hort*. 2006; 109: 1-7.
29. Koltai H, Dor E, Hershenhorn J, Joel DM, Weininger S, Lekalla S, Shealtiel H, Bhattacharya C, Eliahu E, Resnick N, Barg R, Kapulnik Y. Strigolactones" effect on root growth and root-hair elongation may be mediated by auxin-efflux carriers. *Journal of Plant Growth Regulation*. 2010; 29: 129-136.
30. Kalyanne-Fernández MsC. Micorrización in vitro e in vivo de plántulas de papa (*Solanum tuberosum* var. Alfa). *Cultivos Tropicales*. 2010: 31(2): 21-31.
31. Li AR, Guan KY, Stonor R, Smith SE, Smith FA. Direct and indirect influences of arbuscular mycorrhizal fungi on phosphorus uptake by two root hemiparasitic *Pedicularis* species: do the fungal partners matter at low colonization levels? *Annals of Botany*. 2013; 112: 1089-1098.
32. Lumini E, Bianciotto V, Jargeat P, Novero M, Salvioli A, Faccio A, Bécard G, Bonfante P. Presymbiotic growth and sporal morphology are affected in the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* cured of its endobacteria. *Cellular Microbiology*. 2007; 9:1716-1729.
33. Mäder P, Edenhofer S, Boller T, Wiemken A, Niggli U. Arbuscular mycorrhizae in a long-term field trial comparing low-input (Organic, Biological) and high-input (conventional) farming systems in a crop rotation. *Biol. Fertil. Soils* 2000; 31:150-156.
34. Millaleo MR, Montecinos UC, Rubio HR, Contreras NA, Borie BF. Efecto de la adición de compost sobre propágulos micorrícicos arbusculares en un suelo volcánico del centro sur de Chile. *J. Soil Sc. Plant. Nutr.* 2006; 6(3): 26-39.

35. Moreno-Reséndez AL, Gómez-Fuentes P, Cano-Rios V, Matinez-Cueto JL, Reyes-Carrillo JL, Puente-Manriquez L, Rodriguez-Dimas N. Genotipos de tomate en mezclas de vermicompost: arena en invernadero. *Terra latinoamericana*. 2008; 26(2): 103- 109.
36. Nelson JC, Nelson JMA. Uso y manejo de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y humus de lombriz en tomate (*Solanum lycopersicum L.*), bajo sistema protegido. *Cultivos Tropicales*. 2015; 36(1): 55-64.
37. Ortega-Larrocea MP, Morales VJA, García SR. Cultivos monospóricos de hongos micorrízicos arbusculares. En: Álvarez- Sánchez. J, Monroy AA. (Comps.), *Técnicas de estudio de las asociaciones micorrízicas y su implicación de la restauración.*, Facultad de Ciencias, UNAM. México. 2008. p. 69-83.
38. Oseni TO, Shongwe NS, Masarirambi MT. Effect of arbuscular mycorrhiza (AM) inoculation on the performance of tomato nursery seedlings in vermiculite. *Int. J. Agr. Biol.* 2010; 12: 789-792.
39. Phillips JM, Hayman DS. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*. 1970; 55: 158-161.
40. Pretty J. Agricultural sustainability: concepts, principles and evidence. *Phil. Trans. R. Soc. B*. 2008; 363: 447-465.
41. Pinheiro NC, Tavares HOC, Figueira TJR, Saggin JOJ, Coutinho FHMA, Louro BRL. Biostimulation of inoculation with *Glomus proliferum* and application of humic acid in the in vitro growth of *Lunularia cruciata*. *Acta Botanica Brasilica*. 2013; 27(4): 773-778.
42. Pozo MJ, López-Ráez JA, Azcón-Aguilar C, García-Garrido JM. Phytohormones as integrators of environmental signals in the regulation of mycorrhizal symbioses. *New Phytologist*. 2015; 205: 1431-1436.
43. Ruyter-Spira C, Kohlen W, Charnikhova T, van Zeijl A, van Bezouwen L, de Ruijter N, Cardoso C, López-Ráez JA, Matusova R, Bours R, Verstappen F, Bouwmeester H. Physiological effects of the synthetic strigolactone analog GR24 on root system architecture in Arabidopsis: Another below ground role for strigolactones?. *Plant Physiology*. 2011; 155:721-734.
44. Steiner AA. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired

composition. *Plant Soil*. 1961; 15(2):134-154.

45. Sieverding E. Manual de Métodos para la investigación de la micorriza vesículo-arbuscular en el laboratorio. Ciat. Palmira-Cali, Colombia. 1983. p. 120.

46. Trejo D, Ferrera-Cerrato R, García R, Varela L, Alarcón A. Efectividad de siete consorcios nativos de hongos micorrícicos arbusculares en plantas de café en condiciones de invernadero y campo. *Revista Chilena de Historia Natural*. 2011; 84: 23-31.

47. Umehara M, Hanada A, Yoshida S, Akiyama K, Arite T, Takeda-Kamiya N, Magome H, Kamiya Y, Shirasu K, Yoneyama K, Kyojuka J, Yamaguchi S. Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. *Nature* 2008; 455:195-200.

48. Varela L, Estrada-Torres A. El papel de los microorganismos de la rizosfera y de la micorriza en la absorción de nutrimentos minerales y agua. In: Orellana R, Escamilla JA, Larque- Saavedra A. (eds.), *Ecofisiología vegetal y conservación de recursos genéticos*. Centro de Investigacion Científica de Yucatan, AC. (CICY). México. 1997. p. 222.

49. Veresoglou SD, Chen B, Rillig MC. Arbuscular mycorrhiza and soil nitrogen cycling. *Soil Biology and Biochemistry*. 2012; 46:53-62.

50. Velasco VJ, Ferrera CR, Almaraz SJJ. Vermicomposta, micorriza arbuscular y *Azospirillum brasilense* en tomate de cáscara. *TERRA Latinoamericana*. 2001; 19(3): 241-248.

51. Wang C, Li X, Zhou J, Wang G, Dong Y. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and yield of cucumber plants. *Comm Soil Sci Plant Anal*. 2008; 39: 499-509.

52. Zhu XC, Song FB, Liu SQ, Liu TD, Zhou X. Arbuscular mycorrhizae improves photosynthesis and water status of *Zea mays* L. under drought stress. *Plant Soil Environ*. 2012; 58 (4): 186-191.

IV. CONCLUSIONES GENERALES

De acuerdo a esta investigación el mejor sustrato para el desarrollo de las plantas de tomate fue el que contenía lombricomposta, pues en la turba ácida se disminuyó el crecimiento, presentándose este mismo efecto en la concentración de N, P y K. El consorcio nativo 1 en comparación con el consorcio nativo 2 y Ri aumentaron la micorrización, la biomasa total y la concentración de K en la raíz. La disminución de la concentración de N, P y K en la parte aérea es debido a un efecto de dilución pues estas plantas fueron las que crecieron más. Por lo que se concluye que los hongos micorrizicos nativos son opciones viables para la producción de tomate, sin embargo el conocimiento del impacto de los hongos micorrízicos nativos en esta hortaliza en invernadero ha sido poco estudiada, menos aun si se aplican en combinación con abonos orgánicos como la lombricomposta, una práctica que debe ser incorporada a los sistemas de producción hortícola la importancia de incrementar la eficacia de los hongos micorrizicos nativos radica en que tienen mayor capacidad de adaptarse a su propio medio, por lo que se recomienda seguir investigando sobre este aspecto en particular

V. LITERATURA CITADA

- Akiyama K, Matsuzaki KI, Hayashi H (2005). Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature* 435:824-827.
- Akiyama K, Ogasawara S, Ito S, Hayashi H (2010). Structural requirements of strigolactones for hyphal branching in AM fungi. *Plant and Cell Physiology* 51:1104-1117.
- Alberton O, Kuyper TW, Gorissen A (2005). Taking mycocentrism seriously: mycorrhizal fungal and plant responses to elevated CO₂. *New Phytologist* 167:859-868.
- Albiach, R., R. Canet, F. Pomares, y F. Ingelmo (2001). Organic matter components and aggregate stability after the application of different amendments to a horticultural soil. *Bioresource Technology*. 76: 125-129.
- Altieri, M. y Nicholls, C. *Agroecología* (2000). Teoría y práctica para una agricultura sustentable. 1ra edición. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Red de Formación Ambiental para América Latina y el Caribe. México. 117 pp. ISBN 959-7023-229.
- Arancon NQ, Galvis PA, Edwards CA (2005). Suppression of insect pest populations and damage to plants by vermicompost. *Bioresource Technology*. 96: 1137-1142.
- Aroca R, Porcel R, Ruiz-Lozano JM (2007). How does arbuscular mycorrhizal symbiosis regulate root hydraulic properties and plasma membrane aquaporins in *Phaseolus vulgaris* under drought, cold or salinity stresses?. *New Phytologist* 173:808-816
- Azcón-Aguilar C, Bago B, Barea JM (1999). Saprophytic growth of arbuscular mycorrhizal fungi. In: Varma A, Hock B (eds) *Mycorrhiza: structure, function, molecular biology and biotechnology*. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp. 391-407.
- Bago B, Pfeffer P, Shachar-Hill Y (2001). Could the urea cycle be translocating nitrogen in the arbuscular mycorrhizal symbiosis? *New Phytologist* 149:4-8.
- Bago B, Pfeffer PE, Shachar-Hill Y (2000). Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. *Plant Physiology* 124:949-957.
- Bago B, Zipfel W, Williams RM, Jun J, Arreola R, Lammers PJ, Pfeffer PE, Shachar-Hill Y (2002). Translocation and utilization of fungal storage lipid in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Physiology* 128:108-124.

- Bago B. (2000). Putative sites for nutrient uptake in arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 226:263-274.
- Balestrini R, Bonfante P (2005). The interface compartment in arbuscular mycorrhizae: A special type of plant cell wall?. *Plant Biosystems* 139:8-15.
- Balestrini R, Gómez-Ariza J, Lanfranco L, Bonfante P.(2007). Laser microdissection reveals that transcripts for five plant and one fungal phosphate transporter genes are contemporaneously present in arbusculated cells. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 20:1055-1062.
- Barea JM, Ferrol N, Azcón-Aguilar C, Azcón R (2008). Mycorrhizal symbioses. In: White PJ, Hammond JP (eds). *The Ecophysiology of Plant-Phosphorus Interactions*, vol 7. *Plant Ecophysiology*. Springer, Netherlands, pp 143-163.
- Barea JM, Jeffries P (1995). Arbuscular Mycorrhizas in Sustainable Soil Plant Systems. In: Varma A, Hock B (eds) *Mycorrhiza: structure, function, molecular biology and biotechnology*. Springer, Heidelberg, pp. 521-559.
- Barea JM, Toro M, Azcón R.(2007). The use of ^{32}P isotopic dilution techniques to evaluate the interactive effects of phosphate-solubilizing bacteria and mycorrhizal fungi at increasing plant P availability. In: Velázquez E, Rodríguez-Barrueco C (eds) *First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization*, vol 102. *Developments in Plant and Soil Sciences*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 223-227.
- Beena KR., NS Raviraja y KR Sridhar. (2000). Seasonal variations of arbuscular mycorrhizal fungal association with *Ipomoea pes-caprae* of coastal sand dunes, Southern India. *J. Environ. Biol.* 21:341-347.
- Benítez, E., R. Melgar, H. Sainz, M. Gómez, y R. Nogales. (2000). Enzyme activities in the rhizosphere of pepper (*Capsicum annuum*, L.) grown with olive cake mulches. *Soil Biology y Biochemistry*. 32: 1829-1835.
- Besserer A, Bécard G, Jauneau A, Roux C, Séjalon-Delmas N (2008). GR24, a synthetic analog of strigolactones, stimulates the mitosis and growth of the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora rosea* by boosting its energy metabolism. *Plant Physiology* 148:402-413.
- Bianciotto V, Lumini E, Bonfante P, Vandamme P (2003). '*Candidatus Glomeribacter gigasporarum*' gen. nov., sp. nov., an endosymbiont of arbuscular mycorrhizal fungi. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53:121-124.
- Blee KA, Anderson AJ (2002). Transcripts for genes encoding soluble acid invertase and sucrose synthase accumulate in root tip and cortical cells containing mycorrhizal arbuscules. *Plant Molecular Biology* 50:197-211.

- Bonfante P, Perotto S (1995) Strategies of arbuscular mycorrhizal fungi when infecting host plants. *New Phytologist* 130:3-21.
- Bonfante-Fasolo P (1984). Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. In: Powell CL, Bagyaraj DJ (eds) *VA Mycorrhizae*. CRC Press, Boca Raton, pp. 5–33.
- Breuninger M, Requena N (2004). Recognition events in AM symbiosis: analysis of fungal gene expression at the early appressorium stage. *Fungal Genetics and Biology* 41:794-804.
- Breuninger M, Trujillo CG, Serrano E, Fischer R, Requena N (2004). Different nitrogen sources modulate activity but not expression of glutamine synthetase in arbuscular mycorrhizal fungi. *Fungal Genetics and Biology* 41:542-552.
- Britto DT, Kronzucker HJ (2002). NH_4^+ toxicity in higher plants: a critical review. *Journal of Plant Physiology* 159:567-584.
- Bucher M (2007). Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces. *New Phytologist* 173:11-26.
- Bulluck, L. R., M. Brosius, G. K. Evanylo, y J. B. Ristaino. (2002). Organic and synthetic fertility amendments influence soil microbial, physical and chemical properties on organic and conventional farms. *Applied Soil Ecology*. 19: 147-160.
- Campos-Soriano L, Gómez-Ariza J, Bonfante P, San Segundo B (2011). A rice calcium-dependent protein kinase is expressed in cortical root cells during the presymbiotic phase of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *BMC Plant Biology* 11:90.
- Carpenter AT y Allen MF (1988). Response of *Hedysarum boreale* Nutt. To mycorrhizas: plant and soil nutrient changes in a disturbed shrubsteppe. *New Phytologist* 109: 125- 132.
- Chabaud M, Genre A, Sieberer BJ, Faccio A, Fournier J, Novero M, Barker DG, Bonfante P (2011). Arbuscular mycorrhizal hyphopodia and germinated spore exudates trigger Ca^{2+} spiking in the legume and nonlegume root epidermis. *New Phytologist* 189:347-355
- Chabaud M, Venard C, Defaux-Petras A, Bécard G, Barker DG (2002). Targeted inoculation of *Medicago truncatula* in vitro root cultures reveals MtENOD11 expression during early stages of infection by arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 156:265-273.
- Chalot M, Blaudez D, Brun A (2006). Ammonia: a candidate for nitrogen transfer at the mycorrhizal interface. *Trends in Plant Science* 11:263-266.
- Cheng X, Baumgartner K (2004) Arbuscular mycorrhizal fungi-mediated nitrogen

transfer from vineyard cover crops to grapevines. *Biology and Fertility of Soils* 40:406-412

Clark RB, Zeto SK (1996). Mineral acquisition by mycorrhizal maize grown on acid and alkaline soil. *Soil Biol. Biochem.* 28: 1495-1503.

Clark RB, Zeto SK (2000). Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants. *Journal of Plant Nutrition* 23:867-902.

Cruz C, Egsgaard H, Trujillo C, Ambus P, Requena N, Martins-Loução MA, Jakobsen I (2007). Enzymatic evidence for the key role of arginine in nitrogen translocation by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Physiology* 144:782-792.

Cui M y Caldwell MM (1996). Facilitación de plant phosphate acquisition by arbuscular mycorrhizas from enriched soil patches. I. Roots and hyphae exploiting the same soil. *New Phytologist* 122: 643- 649.

De la Providencia IE, de Souza FA, Fernández F, Delmas NS, Declerck S (2005). Arbuscular mycorrhizal fungi reveal distinct patterns of anastomosis formation and hyphal healing mechanisms between different phylogenetic groups. *New Phytologist* 165:261-271.

Dickson S (2004). The Arum-Paris continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytologist* 163:187-200.

Dixon R, Rao MV, Garg VK. (1994). Water relations and gas exchange of Mycorrhizal *Leucaena leucocephala* seedlings. *J. Trop. Forest. Sci.* 6: 542-532

Dominique, R.(1998). Effects of vesicular arbuscular mycorrhizal colonization on nitrogen metabolism in the. *New Phytologist* 163:187-200

Durán-Umaña. Lolita, Henríquez-Henríquez. Carlos. 2010. El vermicompost: su efecto en algunas propiedades del suelo y la respuesta en planta. *Agronomía mesoamericana* 21 :85-93.

Ezawa T, Cavagnaro TR, Smith SE, Smith FA, Ohtomo R (2004). Rapid accumulation of polyphosphate in extraradical hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus as revealed by histochemistry and a polyphosphate kinase/luciferase system. *New Phytologist* 161:387-392.

FAOSTAT. (2014). *Production Crops: Time-Series and Cross Sectional Data Relating to Food and Agriculture for Some 245 Countries*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Fernández, M. L. Producción controlada de cultivos protegidos. Norma Une 155001 de AENOR. 2009. [en línea] [Consultado: Marzo, 2015]. Disponible en: <<http://www.dialnet.unirioja.es/servlet/fichero>>.

- Ferreras, L., Gómez E, Toresani S, Firpo I and Rotondo R (2006). Effect of organic amendments on some physical, chemical and biological properties in a horticultural soil. *Bioresource Technology*. 97: 635-640.
- Ferrol N, Barea JM, Azcón-Aguilar C (2009). The plasma membrane H⁺ -ATPase gene family in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Current Genetics* 37:112-118.
- Ferrol N, Pérez-Tienda J (2009). Coordinated nutrient exchange in arbuscular mycorrhiza. In: Azcón-Aguilar C, Barea JM, Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V (eds) *Mycorrhizas Functional Processes and Ecological Impact*. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, pp 73-87.
- Ferrol N, Pozo MJ, Antelo M, Azcón-Aguilar C (2002). Arbuscular mycorrhizal symbiosis regulates plasma membrane H⁺-ATPase gene expression in tomato plants. *Journal of Experimental Botany* 53:1683-1687.
- Finlay RD (2008). Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *Journal of Experimental Botany* 59:1115-1126.
- Fitter AH, Graves JD, Watkins NK, Robinson D, Scrimgeour C (1998). Carbon transfer between plants and its control in networks of arbuscular mycorrhizas. *Functional Ecology* 12:406-412.
- Frey B, Schüepp H (1993). Acquisition of nitrogen by external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Zea mays* L. *New Phytologist* 124:221-230.
- Friedrich, N. kart, (2001). *Lombricultura*, Centro de Estudio Agropecuarios. Grupo Ed. Iberoamérica. 3a edición México D.F. pp. 8, 14 -17.
- García Garrido JM, León Morcillo RJ, Martín Rodríguez JA, Ocampo Bote JA (2010). Variations in the mycorrhization characteristics in roots of wild-type and ABA-deficient tomato are accompanied by specific transcriptomic alterations. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 23:651-664.
- García-Rodríguez S and Azcón-Aguilar C, Ferrol N (2007). Transcriptional regulation of host enzymes involved in the cleavage of sucrose during arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Physiologia Plantarum* 129:737-746.
- García-Rodríguez S, Pozo MJ, Azcón-Aguilar C, Ferrol N (2005). Expression of a tomato sugar transporter is increased in leaves of mycorrhizal or *Phytophthora parasitica*-infected plants. *Mycorrhiza* 15:489-496.
- Genre A and Bonfante P (2007). Check-in procedures for plant cell entry by biotrophic microbes. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 20:1023-1030.

- Genre A, Chabaud M, Faccio A, Barker DG, Bonfante P (2008). Prepenetration apparatus assembly precedes and predicts the colonization patterns of arbuscular mycorrhizal fungi within the root cortex of both *Medicago truncatula* and *Daucus carota*. *Plant Cell* 20:1407-1420.
- Genre A, Chabaud M, Timmers T, Bonfante P, Barker DG (2005). Arbuscular mycorrhizal fungi elicit a novel intracellular apparatus in *Medicago truncatula* root epidermal cells before infection. *The Plant Cell* 17:3489-3499.
- Gerendás J, Zhu Z, Bendixen R, Ratcliffe RG, Sattelmacher B (1997). Physiological and biochemical processes related to ammonium toxicity in higher plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 160:239-251.
- Gianinazzi-Pearson V (1996). Plant cell responses to arbuscular mycorrhizal fungi: Getting to the roots of the symbiosis. *Plant Cell* 8:1871-1883.
- Giovannetti M, Fortuna P, Citernesi AS, Morini S, Nuti MP (2001). The occurrence of anastomosis formation and nuclear exchange in intact arbuscular mycorrhizal networks. *New Phytologist* 151:717-724.
- Gollotte A, L'Haridon F, Chatagnier O, Wettstein G, Arnould C, Van Tuinen D, Gianinazzi-Pearson V (2006). Repetitive DNA sequences include retrotransposons in genomes of the Glomeromycota. *Genetica* 128:455-469.
- Gomez SK, Javot H, Deewatthanawong P, Torres-Jerez I, Tang Y, Blancaflor EB, Udvardi MK, Harrison MJ (2009). *Medicago truncatula* and *Glomus intraradices* gene expression in cortical cells harboring arbuscules in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *BMC Plant Biol* 9:10.
- Gomez-Roldan V, Fermas S, Brewer PB, Puech-Pagès V, Dun EA, Pillot JP, Letisse F, Matusova R, Danoun S, Portais JC, Bouwmeester H, Bécard G, Beveridge CA, Rameau C, Rochange SF (2008). Strigolactone inhibition of shoot branching. *Nature* 455:189-194.
- Govindarajulu M, Pfeffer PE, Jin HR, Abubaker J, Douds DD, Allen JW, Bucking H, Lammers PJ, Shachar-Hill Y (2005). Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nature* 435:819-823.
- Guether M, Neuhauser B, Balestrini R, Dynowski M, Ludewig U, Bonfante P (2009). A mycorrhizal-specific ammonium transporter from *Lotus japonicus* acquires nitrogen released by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Physiol* 150:73-83.
- Gutiérrez A, Morte A, Honrubia M (2003). Morphological characterization of the mycorrhiza formed by *Helianthemum almeriense* Pau with *Terfezia clavervii* Chatin and *Picoa lefebvrei* (Pat.) Maire. *Mycorrhiza* 13:299-307.
- Gutjahr C, Novero M, Welham T, Wang T, Bonfante P (2011). Root starch accumulation

- in response to arbuscular mycorrhizal colonization differs among *Lotus japonicus* starch mutants. *Planta* 234:639-646.
- Guttenberger M (2000). Arbuscules of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi inhabit an acidic compartment within plant roots. *Planta* 211:299-304.
- Hanlon MT, Coenen C (2011). Genetic evidence for auxin involvement in arbuscular mycorrhiza initiation. *New Phytologist* 189:701-709
- He X, Xu M, Qiu GY, Zhou J (2009). Use of ^{15}N stable isotope to quantify nitrogen transfer between mycorrhizal plants. *Journal of Plant Ecology* 2:107-118.
- Helber N, Wippel K, Sauer N, Schaarschmidt S, Hause B, Requena N (2011). A versatile monosaccharide transporter that operates in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus sp* is crucial for the symbiotic relationship with plants. *Plant Cell* 23:3812-3823
- Herman P (2000). Biodiversity and evolution in mycorrhizae of the desert. Pp. 141-160. In: Ch W Bacon y JF White Jr (Eds). *Micobial endophytes*. Marcel Dekker. Ney York. Basel.
- Hibbett DS, Binder M, Bischoff JF, Blackwell M, Cannon PF, Eriksson OE, Huhndorf S, James T, Kirk PM, Lucking R, Lumbsch HT, Lutzoni F, Matheny PB, McLaughlin DJ, Powell MJ, Redhead S, Schoch CL, Spatafora JW, Stalpers JA, Vilgalys R, Aime MC, Aptroot A, Bauer R, Begerow D, Benny GL, Castlebury LA, Crous PW, Dai YC, Gams W, Geiser DM, Griffith GW, Gueidan C, Hawksworth DL, Hestmark G, Hosaka K, Humber RA, Hyde KD, Ironside JE, Koljalg U, Kurtzman CP, Larsson KH, Lichtwardt R, Longcore J, Miadlikowska J, Miller A, Moncalvo JM, Mozley-Standridge S, Oberwinkler F, Parmasto E, Reeb V, Rogers JD, Roux C, Ryvarden L, Sampaio JP, Schussler A, Sugiyama J, Thorn RG, Tibell L, Untereiner WA, Walker C, Wang Z, Weir A, Weiss M, White MM, Winka K, Yao YJ, Zhang N (2007). A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research* 111:509-547.
- Ho I and Trappe JM (1973). Translocation of ^{14}C from *Festuca* plants to their endomycorrhizal fungi. *Nature* 244:30-31.
- Ho I, Trappe JM (1975). Nitrate reducing capacity of two vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycologia* 67:886-888.
- Hodge A, Campbell CD, Fitter AH (2001). An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. *Nature* 413:297-299.
- Hodge A, Helgason T, Fitter AH (2010). Nutritional ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *Fungal Ecology* 3:267-273.

- Hohnjec N, Perlick AM, Pühler A, Küster H (2003). The *Medicago truncatula* sucrose synthase gene MtSucS1 is activated both in the infected region of root nodules and in the cortex of roots colonized by arbuscular mycorrhizal fungi. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 16:903-915.
- Hohnjec N, Vieweg MF, Pühler A, Becker A, Küster H (2005). Overlaps in the transcriptional profiles of *Medicago truncatula* roots inoculated with two different *Glomus* fungi provide insights into the genetic program activated during arbuscular mycorrhiza. *Plant Physiology* 137:1283-1301.
- Jakobsen I (1994). Research approaches to study the functioning of vesicular-arbuscular mycorrhizas in the field. *Plant and Soil* 159:141-147.
- Jany JL, Pawlowska TE (2010). Multinucleate spores contribute to evolutionary longevity of asexual Glomeromycota. *The American Naturalist* 175:424-435.
- Jargeat P, Cosseau C, Ola'h B, Jauneau A, Bonfante P, Batut J, Bécard G (2004). Isolation, free-living capacities, and genome structure of 'Candidatus *Glomeribacter gigasporarum*', the endocellular bacterium of the mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita*. *Journal of Bacteriology* 186:6876-6884.
- Javot H, Penmetsa RV, Terzaghi N, Cook DR, Harrison MJ (2007). A *Medicago truncatula* phosphate transporter indispensable for the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104:1720-1725.
- Jiang RHY (2011). Dynamics of effectors in host-pathogen interactions. *Mycology* 2:210-217.
- Jin H, Pfeffer PE, Douds DD, Piotrowski E, Lammers PJ, Shachar-Hill Y (2005). The uptake, metabolism, transport and transfer of nitrogen in an arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist* 168:687-696.
- Johansen A, Jensen ES (1996). Transfer of N and P from intact or decomposing roots of pea to barley interconnected by an arbuscular mycorrhizal fungus. *Soil Biology and Biochemistry* 28:73-81.
- Kloppholz S, Kuhn H, Requena N (2011). A secreted fungal effector of *Glomus intraradices* promotes symbiotic biotrophy. *Current biology* 21:1204-1209.
- Kobae Y, Tamura Y, Takai S, Banba M, Hata S (2010). Localized expression of arbuscular mycorrhiza-inducible ammonium transporters in soybean. *Plant and Cell Physiology* 51:1411-1415.
- Koide RT and Lu X (1995). On the cause of offspring superiority conferred by mycorrhizal infection of *Abutilon theophrasti*. *New Phytologist* 131: 435-441.

- Koltai H, Dor E, Hershenhorn J, Joel DM, Weininger S, Lekalla S, Shealtiel H, Bhattacharya C, Eliahu E, Resnick N, Barg R, Kapulnik Y (2010). Strigolactones' effect on root growth and root-hair elongation may be mediated by auxin-efflux carriers. *Journal of Plant Growth Regulation* 29:129-36.
- Koricheva J, Gange AC, Jones T (2009). Effects of mycorrhizal fungi on insect herbivores: a meta-analysis. *Ecology* 90:2088-2097.
- Kosuta S, Chabaud M, Loughon G, Gough C, Dénarié J, Barker DG, Bécard G (2003). A diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi induces symbiosis-specific MtENOD11 expression in roots of *Medicago truncatula*. *Plant Physiology* 131:952-962.
- Kosuta S, Hazledine S, Sun J, Miwa H, Morris RJ, Downie JA, Oldroyd GED (2008). Differential and chaotic calcium signatures in the symbiosis signaling pathway of legumes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105:9823-9828.
- Krajinski F, Hause B, Gianinazzi-Pearson V, Franken P (2002). *Mtha1*, a plasma membrane H⁺ATPase gene from *Medicago truncatula*, shows arbuscule-specific induced expression in mycorrhizal tissue. *Plant Biology* 4:754-761.
- Krüger M, Krüger C, Walker C, Stockinger H, Schüßler A (2012). Phylogenetic reference data for systematics and phylotaxonomy of arbuscular mycorrhizal fungi from phylum to species level. *New Phytologist* 193:970- 984.
- Leigh J, Hodge A, Fitter AH (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi can transfer substantial amounts of nitrogen to their host plant from organic material. *New Phytologist* 181:199-207.
- Linderman RG (1992). Versicular-arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions. In: Bethlenfalvay GJ, Linderman RG (eds) *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. ASA Special Publication, Madison, pp. 65-77.
- Liu J, Blaylock LA, Endre G, Cho J, Town CD, VandenBosch KA, Harrison MJ (2003). Transcript profiling coupled with spatial expression analyses reveals genes involved in distinct developmental stages of an arbuscular mycorrhizal symbiosis. *The Plant Cell Online* 15:2106-2123.
- Liu J, Maldonado-Mendoza I, Lopez-Meyer M, Cheung F, Town CD, Harrison MJ (2007). Arbuscular mycorrhizal symbiosis is accompanied by local and systemic alterations in gene expression and an increase in disease resistance in the shoots. *Plant Journal* 50:529-544.
- López-Ráez JA, Charnikhova T, Gómez-Roldán V, Matusova R, Kohlen W, De Vos R, Verstappen F, Puech-Pages V, Bécard G, Mulder P, Bouwmeester H (2008). Tomato strigolactones are derived from carotenoids and their biosynthesis is

promoted by phosphate starvation. *New Phytologist* 178:863-874.

López-Ráez JA, Pozo MJ, García-Garrido JM (2011). Strigolactones: A cry for help in the rhizosphere. *Botany* 89:513-522.

López-Ráez JA, Verhage A, Fernández I, García JM, Azcón-Aguilar C, Flors V, Pozo MJ (2010). Hormonal and transcriptional profiles highlight common and differential host responses to arbuscular mycorrhizal fungi and the regulation of the oxylipin pathway. *Journal of Experimental Botany* 61:2589-2601.

Lumini E, Bianciotto V, Jargeat P, Novero M, Salvioli A, Faccio A, Bécard G, Bonfante P (2007). Presymbiotic growth and sporal morphology are affected in the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* cured of its endobacteria. *Cellular Microbiology* 9:1716-1729.

MacDonald RM, Chandler MR, Mosse B (1982). The occurrence of bacterium-like organelles in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 90:659-663.

Maeda D, Ashida K, Iguchi K, Chechetka SA, Hijikata A, Okusako Y, Deguchi Y, Izui K, Hata S (2006). Knockdown of an Arbuscular Mycorrhiza-inducible. Phosphate Transporter Gene of *Lotus japonicus* Suppresses Mutualistic Symbiosis. *Plant and Cell Physiology* 47:807-817.

Maillet F, Poinso V, Andre O, Puech-Pages V, Haouy A, Gueunier M, Cromer L, Giraudet D, Formey D, Niebel A, Martinez EA, Driguez H, Becard G, Denarie J (2011). Fungal lipochitoooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza. *Nature* 469:58-63.

Martin F, Gianinazzi-Pearson V, Hijri M, Lammers P, Requena N, Sanders IR, Shachar-Hill Y, Shapiro H, Tuskan GA, Young JPW (2008). The long hard road to a completed *Glomus intraradices* genome. *New Phytologist* 180:747-750.

Marzluf GA (1996). Regulation of nitrogen metabolism in mycelial fungi. In: Brambl R, Marzluf GA (eds) *The Mycota III: Biochemistry and Molecular Biology*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 357–368.

Matusova R, Rani K, Verstappen FWA, Franssen MCR, Beale MH, Bouwmeester HJ (2005). The strigolactone germination stimulants of the plant-parasitic *Striga* and *Orobanche* spp. are derived from the carotenoid pathway. *Plant Physiology* 139:920-934.

Maya, C.; Roopa, B.; Makari, H. y Nagaraj, K. (2012). The synergistic effect of VAM fungi with rhizobium on the growth and yield of *Cicer arietinum* L. *International Interdisciplinary Research Journal*, 82: 805-814

Miller RM, Reinhardt DR, Jastrow JD (1995). External hyphal production of vesicular-

arbuscular mycorrhizal fungi in pasture and tallgrass prairie communities. *Oecologia* 103:17-23.

- Minaxi-Saxena J, Chandra S and Nain L (2013). Synergistic effect of phosphate solubilizing rhizobacteria and arbuscular mycorrhiza on growth and yield of wheat plants. *Journal of soil science and plant nutrition*, vol. 13, no. 2. ISSN 0718-9516.
- Morales-Munguía, J. C., M. V. Fernandez Ramirez, A. Montiel-Cota, B. C. Peralta-Beltrán. (2009). Evaluación de sustratos orgánicos en la producción de lombricomposta y el desarrollo de lombriz (*Eisenia foetida*). *BIOTecnia* 11:19-26.
- Nagy R, Karandashov V, Chague V, Kalinkevich K, Tamasloukht MB, Xu G, Jakobsen I, Levy AA, Amrhein N, Bucher M (2005.) The characterization of novel mycorrhiza-specific phosphate transporters from *Lycopersicon esculentum* and *Solanum tuberosum* uncovers functional redundancy in symbiotic phosphate transport in solanaceous species. *The Plant Journal* 42:236-250.
- Nardi S, Morari F, Berti A, Tosoni M and Giardini L (2004). Soil organic matter properties after 40 years of different use of organic and mineral fertilisers. *European Journal of Agronomy* 21: 357-367.
- Naumann M, Schüßler A, Bonfante P (2010). The obligate endobacteria of arbuscular mycorrhizal fungi are ancient heritable components related to the *Mollicutes*. *ISME Journal* 4:862-871.
- Newsham KK, Fitter AH and Watkinson AR (1994). Root pathogenic and arbuscular mycorrhizal fungi determine fecundity of asymptomatic plants in the field. *Journal of Ecology* 82: 805-814.
- Ohtomo R, Saito M. (2005). Polyphosphate dynamics in mycorrhizal roots during colonization of an arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytologist* 167:571-578.
- Oláh B, Brière C, Bécard G, Dénarié J, Gough C (2005). Nod factors and a diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi stimulate lateral root formation in *Medicago truncatula* via the DMI1/DMI2 signalling pathway. *The Plant Journal* 44:195-207.
- Oldroyd GE, Downie JA (2006). Nuclear calcium changes at the core of symbiosis signalling. *Current Opinion in Plant Biology* 9:351-357.
- Oldroyd GED, Harrison MJ, Paszkowski U (2009). Reprogramming plant cells for endosymbiosis. *Science* 324:753-754.
- Olsson PA, van Aarle IM, Allaway WG, Ashford AE, Rouhier H (2002). Phosphorus effects on metabolic processes in monoxenic arbuscular mycorrhiza cultures. *Plant Physiology* 130:1162-1171.

- Osonobi O, Bakare ON, Mulongoy K (1992). Interactions between drought stress and vesicular arbuscular mycorrhiza on the growth of *Faidherbia albida* (syn. *Acacia albida*) and *A. nilotica* in sterile and non sterile soils. *Biol. Fert. Soils* 14: 159-165.
- Owen AG, Jones DL (2001). Competition for amino acids between wheat roots and rhizosphere microorganisms and the role of amino acids in plant N acquisition. *Soil Biology and Biochemistry* 33:651-657.
- Parniske M (2008). Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology* 6:763-775.
- Pérez Y (2012). Inoculación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) por dos vías diferentes en el cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum L.*). *Cultivos Tropicales*, vol. 33, no. 4, pp. 71-76. ISSN 1819-4087.
- Pfeffer PE, Douds DD, Becard G, Shachar-Hill Y (1999). Carbon uptake and the metabolism and transport of lipids in an arbuscular mycorrhiza. *Plant Physiology* 120:587-598.
- Piotrowski JS, Denich T, Klironomos JN, Graham JM, Rillig MC (2004). The effects of arbuscular mycorrhizas on soil aggregation depend on the interaction between plant and fungal species. *New Phytologist* 164:365-373.
- Pozo MJ, Azcón-Aguilar C (2007). Unraveling mycorrhiza-induced resistance. *Current Opinion in Plant Biology* 10:393-398.
- Purin S, Morton J (2011). In situ analysis of anastomosis in representative genera of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 21:505-514.
- Raven JA, Wollenweber B, Handley LL (1992). A comparison of ammonium and nitrate as nitrogen sources for photolithotrophs. *New Phytologist* 121:19-32.
- Requena N, Breuninger M, Franken P, Ocón A (2003). Symbiotic status, phosphate, and sucrose regulate the expression of two plasma membrane H⁺-ATPase genes from the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Plant Physiology* 132 (3):1540-1549.
- Requena N, Serrano E, Ocón A, Breuninger M (2007). Plant signals and fungal perception during arbuscular mycorrhiza establishment. *Phytochemistry* 68:33-40.
- Rillig MC, Mummey DL (2006). Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist* 171:41-53.
- Rodríguez C (2002). Las micorrizas. En: First International meeting on microbial phosphate solubilization. Abstracts. España, p. 36.

- Ros, M., Klammer S, Knapp B, Aichberger K and Insam H 2006. Long-term effects of compost amendment of soil on functional and structural diversity and microbial activity. *Soil Use y Management*. 22: 209-218.
- Rosendahl CN, Rosendhal S (1991). Influence of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus* spp.) on the response of cucumber (*Cucumis sativus* L.) to salt stress. *Env. Exp. Bot.* 31: 313-318.
- Russell PJ, Rodland KD, Rachlin EM, McCloskey JA (1987). Differential DNA methylation during the vegetative life cycle of *Neurospora crassa*. *Journal of Bacteriology* 169:2902-2905.
- Ruyter-Spira C, Kohlen W, Charnikhova T, van Zeijl A, van Bezouwen L, de Ruijter N, Cardoso C, López-Ráez JA, Matusova R, Bours R, Verstappen F, Bouwmeester H (2011). Physiological effects of the synthetic strigolactone analog GR24 on root system architecture in *Arabidopsis*: Another belowground role for strigolactones?. *Plant Physiology* 155:721-734.
- Ryan MH, McCully ME, Huang CX (2003). Location and quantification of phosphorus and other elements in fully hydrated, soil-grown arbuscular mycorrhizas: a cryo-analytical scanning electron microscopy study. *New Phytologist* 160:429-441.
- Schaarschmidt S, González M-C, Roitsch T, Strack D, Sonnewald U, Hause B (2007). Regulation of arbuscular mycorrhization by carbon. The symbiotic interaction cannot be improved by increased carbon availability accomplished by root-specifically enhanced invertase activity. *Plant Physiology* 143:1827-1840.
- Schaarschmidt S, Hause B (2008). Apoplastic invertases: Multi-faced players in the arbuscular mycorrhization. *Plant Signaling y Behavior* 3 (5):317-319.
- Scheible W-R, Morcuende R, Czechowski T, Fritz C, Osuna D, Palacios-Rojas N, Schindelasch D, Thimm O, Udvardi MK, Stitt M (2004). Genome-wide reprogramming of primary and secondary metabolism, protein synthesis, cellular growth processes, and the regulatory infrastructure of *Arabidopsis* in response to nitrogen. *Plant Physiology* 136:2483-2499
- Schüßler A, Schwarzott D, Walker C (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research* 105:1413-1421.
- Shachar-Hill Y, Pfeffer PE, Douds D, Osman SF, Doner LW, Ratcliffe RG.(1995). Partitioning of intermediary carbon metabolism in vesicular-arbuscular mycorrhizal leek. *Plant Physiology* 108:7-15.
- SIAP, (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera) 2014. Cierre de la Producción Agrícola por Cultivo: Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Secretaria de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Pesca y Alimentos.

- Siciliano V, Genre A, Balestrini R, Cappellazzo G, deWit PJGM, Bonfante P (2007). Transcriptome analysis of arbuscular mycorrhizal roots during development of the prepenetration apparatus. *Plant Physiology* 144:1455-1466.
- Smith DG, Garcia-Pedrajas MD, Gold SE, Perlin MH (2003). Isolation and characterization from pathogenic fungi of genes encoding ammonium permeases and their roles in dimorphism. *Molecular Microbiology* 50:259-275.
- Smith S, Jakobsen I, Gronlund M and Smith A (2011). Roles of arbuscular mycorrhizal in plant phosphorus nutrition: Interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. *Plant Physiology*, July, vol. 156, no. 3, pp. 1050-1057.
- Smith SE (1966). Physiology and ecology of orchid mycorrhizal fungi with reference to seedling nutrition. *New Phytologist* 65 (4):488-499.
- Smith SE, Gianinazzi-Pearson V (1988). Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 39 (1):221-244.
- Smith SE, Read DJ (1997). *Mycorrhizal Symbiosis*, 2nd ed. Academic Press Ltd., London, England, pp 455
- Smith SE, Read, DJ (2008). *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press, London, UK, pp 607
- Smith SE, Smith FA (2012). Fresh perspectives on the roles of arbuscular mycorrhizal fungi in plant nutrition and growth. *Mycologia* 104:1-13.
- Smith SE, Smith FA, Jakobsen I (2004). Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake. *New Phytologist* 162:511-524.
- Solaiman MZ, Saito M (1997). Use of sugars by intraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi revealed by radiorespirometry. *New Phytologist* 136:533-538.
- Staddon PL, Ramsey CB, Ostle N, Ineson P, Fitter AH (2003). Rapid turnover of hyphae of mycorrhizal fungi determined by AMS microanalysis of ¹⁴C. *Science* 300:1138-1140.
- Stanley MR, RT Koide y DL Shumaway. (1993). Mycorrhizal symbiosis increases growth, reproduction and recruitment of *Abutilon theophrasti* Medic in the field. *Oecologia* 94: 30-35.
- Stitt M (1999). Nitrate regulation of metabolism and growth. *Current Opinion in Plant*

Biology 2:178-186.

- St-John BJ, Smith SE, Nicholas DJD, Smith FA (1985). Enzymes of ammonium assimilation in the mycorrhizal fungus *Pezizella ericae* Read. *New Phytologist* 100:579-584.
- Strack D, Fester T.(2006). Isoprenoid metabolism and plastid reorganization in arbuscular mycorrhizal roots. *New Phytologist* 172:22-34.
- Subramanian KS, Charest C (1998). Arbuscular mycorrhizae and nitrogen assimilation in maize after drought and recovery. *Physiologia Plantarum* 102:285-296.
- Tani C, Ohtomo R, Osaki M, Kuga Y, Ezawa T (2009). ATP-dependent but proton gradient-independent polyphosphate-synthesizing activity in extraradical hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus. *Applied and Environmental Microbiology* 75:7044-7050.
- Taylor AFS, Alexander I (2005). The ectomycorrhizal symbiosis: life in the real world. *Mycologist* 19:102-112.
- Tian C, Kasiborski B, Koul R, Lammers PJ, Bucking H, Shachar-Hill Y. (2010). Regulation of the nitrogen transfer pathway in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: Gene characterization and the coordination of expression with nitrogen flux. *Plant Physiology* 153:1175-1187.
- Tisserant E, Kohler A, Dozolme-Seddas P, Balestrini R, Benabdellah K, Colard A, Croll D, Da Silva C, Gomez SK, Koul R, Ferrol N, Fiorilli V, Formey D, Franken P, Helber N, Hijri M, Lanfranco L, Lindquist E, Liu Y, Malbreil M, Morin E, Poulain J, Shapiro H, van Tuinen D, Waschke A, Azcón-Aguilar C, Bécard G, Bonfante P, Harrison MJ, Küster H, Lammers P, Paszkowski U, Requena N, Rensing SA, Roux C, Sanders IR, Shachar-Hill Y, Tuskan G, Young JPW, Gianinazzi-Pearson V, Martin F (2012). The transcriptome of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* (DAOM 197198) reveals functional tradeoffs in an obligate symbiont. *New Phytologist* 193:755-769.
- Toussaint JP, St-Arnaud M, Charest C (2004). Nitrogen transfer and assimilation between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* Schenck & Smith and Ri T-DNA roots of *Daucus carota* L. in an in vitro compartmented system. *Canadian Journal of Microbiology* 50:251-260.
- Uetake Y, Kojima T, Ezawa T, Saito M (2002). Extensive tubular vacuole system in an arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita*. *New Phytologist*, 154:761-768.
- Umehara M, Hanada A, Yoshida S, Akiyama K, Arite T, Takeda-Kamiya N, Magome H, Kamiya Y, Shirasu K, Yoneyama K, Kyojuka J, Yamaguchi S (2008). Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. *Nature* 455:195-200.

- Veresoglou SD, Chen B, Rillig MC (2012). Arbuscular mycorrhiza and soil nitrogen cycling. *Soil Biology and Biochemistry* 46:53-62.
- Voets L, de la Providencia IE, Declerck S (2006). Glomeraceae and Gigasporaceae differ in their ability to form hyphal networks. *New Phytologist* 172:185-188.
- Walter MH, Floß DS, Hans J, Fester T, Strack D (2007). Apocarotenoid biosynthesis in arbuscular mycorrhizal roots: Contributions from methylerythritol phosphate pathway isogenes and tools for its manipulation. *Phytochemistry* 68 (1):130-138.
- Wang B, Qiu YL (2006). Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza* 16:299-363.
- Wang R, Okamoto M, Xing X, Crawford NM (2003). Microarray analysis of the nitrate response in arabidopsis roots and shoots reveals over 1.000 rapidly responding genes and new linkages to glucose, trehalose-6-phosphate, iron, and sulfate metabolism. *Plant Physiology* 132:556-567.
- Weber J, Karczewska A, Drozd J, Licznar M, Jamroz E, Kocowicz A (2007). Agricultural and ecological aspects of a sandy soil as affected by the application of municipal solid waste composts. *Soil Biology & Biochemistry*. 39: 1294-1302.
- Weidmann S, Sanchez L, Descombin J, Chatagnier O, Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V (2004). Fungal elicitation of signal transduction-related plant genes precedes mycorrhiza establishment and requires the *dmi3* gene in *Medicago truncatula*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 17:1385-1393.
- Wright DP, Read DJ, Scholes JD (1998). Mycorrhizal sink strength influences whole plant carbon balance of *Trifolium repens* L. *Plant, Cell y Environment* 21:881-891.
- Wright DP, Scholes JD, Read DJ, Rolfe SA (2005). European and African maize cultivars differ in their physiological and molecular responses to mycorrhizal infection. *New Phytologist* 167:881-896.
- Yu TE, Egger KN, Peterson LR (2001). Ectendomycorrhizal associations Characteristics and functions. *Mycorrhiza* 11:167-177.