



**ESCUELA SUPERIOR DE INGENIERÍA
UNIVERSIDAD DE ALMERÍA**

**Estudio de la presencia de micorrizas arbusculares
en zonas áridas de la provincia de Almería**

Grado en Ingeniería Agrícola

Trabajo monográfico

ALUMNO: Isabel Inmaculada Martín Fernández

DIRECTORES: Dr. Dña. Milagrosa Santos Hernández

Dr. D. Fernando Diánez Martínez

Agradecimientos

Agradecer en primer lugar a los directores de mi proyecto Mila y Fernando, por darme la oportunidad de trabajar con ellos, y en especial a Mila por darme siempre una solución a todos mis problemas y ayudarme en todo lo posible estando así cien por cien disponible en todo momento.

Dedicar este trabajo a mis padres que son el motor de mi vida, que velan por mí deseándome lo mejor de este mundo, porque sin ellos esto no hubiese sido posible. Gracias por apoyarme y estar siempre tanto en lo bueno como en lo malo.

A mi hermano, porque siempre estar conmigo en todo momento.

A Esther por aguantar todos mis calentamientos de cabeza y seguir estando ahí después de tantos años.

A mi Mamica, a mis tías Candelaria y Ana, a mi prima Loli y a mis niñas Eugenia y Candela, por estar pendiente de mí dándole un toque de aire fresco a mi vida alegrándome los días.

Como no a mis compañeros y principalmente amigos Inma y Joaquín, gracias por esas tardes de proyecto y de meriendas haciendo que esta experiencia sea más amena.

ÍNDICE GENERAL

1. Interés y objetivos	7
1.1. Interés	8
1.2. Objetivos	9
2. Fases de la realización del trabajo fin de grado y su cronograma asociado.....	10
3. Revisión Bibliográfica	12
3.1. Ecosistemas Mediterráneos	13
3.2. Hongos Micorrízicos	15
3.2.1. Las micorrizas Arbusculares.....	17
3.2.2. Evolución de los hongos MA	20
3.2.3. Clasificación y filogenia de los hongos MA	21
3.2.4. Ciclo de vida de las Micorrizas.....	24
3.2.5. Significado de los hongos MA en el sistema suelo-planta.....	26
4. Materiales y métodos.....	34
4.1. Introducción	35
4.2. Preparación del suelo.....	36
4.3. Inoculación en semillero.....	36
4.4. Medición de los diferentes parámetros	37
4.4.1. Parámetros a medir.....	37
4.4.1.1. Volumen radical	37
4.4.1.2. Peso seco	38
4.5. Determinación de presencia y abundancia de endomicorrizas	38

4.6. Inoculación en plantas de melón.....	42
4.6.1. Medición de los diferentes parámetros en plantas de melón.....	42
4.6.2. Determinación de presencia y abundancia de endomicorrizas en plantas de melón.....	43
5. Resultados.....	44
5.1. Introducción.....	45
5.2. Estudio de la presencia de micorrizas arbusculares en el cultivo de maíz en diferentes zonas de la provinci de Almería	45
5.2.1. Volumen media de las raíces del maíz	45
5.2.1.1. Sierra de Alhamilla	46
5.2.1.2. Zona Costera-Litoral.....	47
5.2.2. Peso seco medio de la parte aérea del maíz.....	48
5.2.2.1. Sierra de Alhamilla	49
5.2.2.2. Zona Costera-Litoral.....	49
5.2.3. Porcentaje micorrización.....	50
5.2.3.1. Sierra de Alhamilla	51
5.2.3.2. Zona Costera-Litoral.....	52
5.3. Estudio de la posible inducción de las micorrizas arbusculares obtenidas en el ensayo del maíz en el cultivo del melón.....	53

5.3.1. Peso seco medio por planta de melón una vez inducidas las micorrizas a través de las raíces que han dado positivo en el cultivo anterior en dos zonas de la provincia de Almería.....	53
5.3.1.1. Sierra de Alhamilla	54
5.3.1.2. Zona Costera-Litoral.....	55
5.3.2. Porcentaje micorrización en melón.....	56
5.3.2.1. Sierra de Alhamilla	57
5.3.2.2. Zona Costera-Litoral.....	58
6. Discusión	59
7. Conclusiones.....	68
8. Bibliografía.....	70

INDICE DE FIGURAS Y FOTOS

Figura 1: Esquema de tipos de micorrizas. Por Medina-Villena. M.	15
Figura 2: Ciclo de vida de los hongos formadores de MA (Tornado de Porcel <i>et al.</i> 2012).	23
Figura 3: Esquema de las estructuras anatómicas de las MA. Abreviaturas: A , arbusculo; AP .apresorio; E , espora; H , hifa intercelular; M , micelio extra radical; O . ovillo; V . vesícula. (Tornado de Palenzuela and Barea. 2002).	24
Foto 1: Plantas de maíz con las raíces lavadas.	36
Foto 2: Raíces de maíz seccionadas.	37
Foto 3: Raíces de maíz con KOH al 10%.	38
Foto 4: Modo de empleo del lavado de las raíces de maíz.	38
Foto 5: Raíces de maíz con HCL.	39
Foto 6: Raíces de maíz con azul tripán.	39
Foto 7: Preparación de las muestras de raíces.	40
Foto 8: Vesículas presentes en raíces de Maíz y de Melón a través del microscopio.	40
Foto 9: Plantas germinadas de Melón en el invernadero.	41
Foto 10: División de la parte aérea y la parte radical e las plantas de Melón.	41

INDICE DE TABLAS Y GRÁFICAS

Tabla 1: Clasificación de los hongos MA según Kruger et al/2012 .	21
Tabla 2: Clasificación de los hongos MA según Oehl et al.2011 .	22
Tabla 3: Volúmenes medios de los diferentes tipos de suelos Sa (Sierra Alhamilla y LIT (Costa-Litoral) en el cultivo del Maíz.	44
Tabla 4: Pesos secos medios de los diferentes tipos de suelos Sa (Sierra Alhamilla) y LIT (Costa-Litoral) en el cultivo del Maíz.	47
Tabla 5: % de micorrización de los diferentes tipos de suelos Sa (Sierra Alhamilla) y LIT (Costa-Litoral) en el cultivo del Maíz.	49
Tabla 6: Pesos secos medios de los diferentes tipos de suelos Sa (Sierra Alhamilla) y LIT (Costa-Litoral) en el cultivo del Melón.	52
Tabla 7: % de micorrización de los diferentes tipos de suelos Sa (Sierra Alhamilla) y LIT (Costa-Litoral) en el cultivo del Melón.	55
Gráfica 1: Volumen medio (mL) de las raíces del maíz en diferentes zonas de Sierra de Alhamilla. Se compara con un control y un testigo (Glomus).	45
Gráfica 2: Volumen medio de las raíces del maíz en (ml) en diferentes zonas de la Costa-Litoral. Se compara con un control y un testigo (Glomus).	46
Gráfica 3: Peso seco medio de las partes aéreas del maíz en (gr) en diferentes zonas de Sierra de Alhamilla. Se compara con un control y un testigo (Glomus).	48
Gráfica 4: Peso seco medio de las partes aéreas del maíz en (gr) en diferentes zonas de la Costa-Litoral. Se compara con un control y un testigo (Glomus).	48

Gráfica 5: Tanto por ciento de Micorrización en maíz en diferentes zonas de Sierra de Alhamilla. Se compara con un control y un testigo (Glomus). **50**

Gráfica 6: Tanto por ciento de Micorrización en maíz en diferentes zonas de la Costa-Litoral. Se compara con un control y un testigo (Glomus). **51**

Gráfica 7: Peso seco medio (g) por planta de las partes aéreas del melón en diferentes zonas de Sierra de Alhamilla. Se compara con un control y un testigo (Glomus). **53**

Gráfica 8: Peso seco medio (g) por planta de las partes aéreas del melón en diferentes zonas de la Costa-Litoral. Se compara con un control y un testigo (Glomus). **54**

Gráfica 9: Tanto por ciento de Micorrización en melón en diferentes zonas de Sierra de Alhamilla. Se compara con un control y un testigo (Glomus). **56**

Gráfica 10: Tanto por ciento de Micorrización en melón en diferentes zonas de la Costa-Litoral. Se compara con un control y un testigo (Glomus). **57**

Interés y Objetivos

1. Interés y objetivos.

1.1. Interés.

El término micorriza (del griego mikos, hongo, y rhiza, raíz) fue utilizado por vez primera en 1885 por Frank para hacer referencia a determinadas asociaciones existentes entre algunos hongos del suelo y las raíces de las plantas. Sin embargo, no sería hasta mediados del pasado siglo cuando se empezaron a poner de manifiesto la importancia y el significado de estas asociaciones así como la universalidad de las mismas. Actualmente se estima que el 90% de las plantas que crecen sobre la Tierra están micorrizadas (Smith y Read, 2008).

Las micorrizas son una simbiosis, normalmente mutualista, de carácter biotrófico en la que el huésped autótrofo, la planta, proporciona compuestos carbonatados, procedentes de la fotosíntesis al simbiote heterótrofo, el hongo, así como un micro hábitat protegido. A cambio el hongo corresponde al vegetal con el aporte de nutrientes minerales, principalmente fósforo, y agua, mediante un sistema ramificado de hifas extra radicales capaz de explorar el suelo más allá de la zona de influencia de la raíz (Barea *et al.*, 1980).

El grado de interdependencia entre ambos simbioses es máximo, de modo que las plantas necesitan estar micorrizadas para alcanzar un desarrollo óptimo, e incluso para sobrevivir en situaciones extremas. El hongo, por su parte es bastante dependiente de la planta para completar su ciclo de vida, dependencia que es máxima en el caso de las micorrizas arbusculares, las más extendidas en la naturaleza, en las que el hongo es un simbiote obligado que no puede completar su ciclo de vida en ausencia de una planta hospedadora (Bago y Becard, 2002).

Las micorrizas arbusculares (MA) constituyen el tipo de simbiosis más ampliamente representado en la naturaleza. Se estima que está presente en el 80% de las plantas, principalmente Angiospermas, así como en Gimnospermas, Briofitas y Pteridofitas. Los hongos que las forman son microscópicos, en contraste con los demás hongos

formadores de micorrizas. La principal característica morfológica de estos hongos son los arbusculos, estructuras típicas de la colonización que el hongo desarrolla en el interior de las células de la corteza de la raíz por ramificación dicotómica repetida de sus hifas.

Como se indicó anteriormente, los hongos MA y las plantas han evolucionado en una estrecha relación desde hace más de 400 millones de años. Quizás sea esta evolución conjunta la causa de una de las características principales de este tipo de hongos, su carácter de biótrosos obligados. Esto condiciona que el hongo tenga la necesidad de encontrar y colonizar una raíz hospedadora para poder continuar su crecimiento y completar su ciclo de vida, que culmina con la formación de nuevos propágulos viables (Azcón-Aguilar *et al.*, 1991 y 1998; Bagoet *al.*, 2000).

1.2. Objetivos.

1.2.1. Determinación de la presencia de micorrizas en dos zonas autóctonas de la provincia de Almería.

1.2.2. Inoculación de micorrizas en el cultivo del melón.

Fases de la realización del trabajo fin de grado y su cronograma asociado

Se seleccionaron muestras de dos ecosistemas representativos de la provincia de Almería para la realización de este estudio. Se tomaron muestras en “Sierra de Alhamilla” y en la “Zona Costera–Litoral”.

Las fases para la realización de este proyecto fin de Grado son las siguientes:

- El sábado 31 de enero del 2015 se procedió a tomar las muestras de los diferentes ecosistemas para la realización de este trabajo.
- El lunes 2 de febrero del 2015 se procedió a la siembra de las semillas de maíz en las macetas con los diferentes sustratos.
- El viernes 27 de febrero del 2015 se trasladaron las plantas al invernadero de la Universidad de Almería.
- Entre el 21 y 24 de abril del 2015 se extrajeron las plantas de los maceteros, se limpiaron las raíces y separamos la parte aérea de la parte de la parte radical para la determinación de los distintos parámetros a estudiar.
- A principios de mayo del 2015 se realizó el proceso y el análisis de datos y la elaboración de los resultados.
- El 4 de junio del 2015 se procedió a la siembra de las semillas de melón con las diferentes raíces micorrizadas obtenidas en maíz.
- A finales de julio del 2015 se determinaron los distintos parámetros a estudiar de las plantas de melón en este caso el peso seco de las plantas.
- En agosto del 2015 haremos el proceso y análisis de datos y elaboración de los resultados y las conclusiones.

Revisión bibliográfica

3. Revisión bibliográfica.

3.1. Ecosistemas Mediterráneos.

Los ecosistemas mediterráneos incluyen un importante número de comunidades bióticas que se desarrollan bajo la influencia del denominado macrobio clima mediterráneo según la clasificación bioclimática de (Rivas-Martínez, 1981). Esta unidad tipológica de rango superior se puede encontrar en cualquier altitud y valor de continentalidad en todos los territorios extra tropicales de la Tierra pertenecientes a las cinturas subtropical y eutemplada, principalmente entre los 30 y 40° de latitud N y S. Característica fundamental para catalogar una zona como “de clima mediterráneo” es que en ellas existen al menos dos meses consecutivos con aridez durante el verano, es decir, en los que el valor en milímetros de la precipitación media del bimestre más cálido del trimestre estival es menor del doble de la temperatura media del bimestre más cálido del trimestre estival expresada en grados centígrados ($P < 2T$). También es una característica del clima mediterráneo la alternancia de la estación cálida y seca con una estación fría y húmeda, con precipitaciones irregulares y esporádicas, pero frecuentemente torrenciales (López-Bermúdez and Albaladejo, 1990). Aunque se le denomine clima mediterráneo, debido a que una de las zonas más representativas con este clima son las regiones circundantes del mar Mediterráneo, hay numerosas zonas que comparten las características de este clima, con mayor representación territorial en el centro y en el occidente de todos los continentes excepto en la Antártida.

La parte árida y semiárida de la región mediterránea, en torno a dicho Mar corresponde a la zona oriental de la Península Ibérica, las costas septentrionales de África (Argelia, Egipto, Libia, Marruecos y Túnez) y las islas de Creta, Chipre y las Baleares. En estas áreas, las precipitaciones anuales están por debajo de los 400 mm. (Wheeler y Kostbade, 1990). Además del clima, tanto el relieve, como el sustrato litológico, la cubierta vegetal y la intervención humana son factores esenciales que definen las cualidades y funcionamiento de los ecosistemas mediterráneos. Los suelos sobre los que se desarrollan los ecosistemas mediterráneos presentan características funcionales diferentes de los que se encuentran en ecosistemas templados y

tropicales. Son suelos más jóvenes y menos profundos que los tropicales, (debido a tasas de meteorización de la roca sensiblemente inferiores) y han estado sujetos a una mayor tasa de erosión que los suelos de ecosistemas templados (debido a unos usos mas intensivos y prolongados por parte del hombre, y quizás por la mayor recurrencia de incendios) (Gallardo *et al.*, 2009). Estas diferencias imponen las primeras restricciones a las plantas que se desarrollan sobre estos suelos. La escasa profundidad impone un límite al tamaño de los individuos, mientras que la erosión de los horizontes superficiales limita la cantidad de materia orgánica y los nutrientes que de ella se derivan (Yaalon, 1997).

Los ecosistemas de la región mediterránea son muy variados, y su vegetación climática pueden ser bosques esclerófilos de hoja perenne, bosquetes espinosos, estepas templadas o incluso semi desiertos helados, todos ellos adaptados a soportar un periodo de aridez de hasta nueve meses. Por ello la vegetación mediterránea desarrolla principalmente dos tipos de alternativas de adaptación xerófila: la presencia de estructuras aéreas persistentes (como es el caso de los matorrales) y la que expresa la vegetación de temporada, en el caso de las plantas terofitas, como por ejemplo los pastizales de especies anuales. Hay que destacar además, que la biomasa subterránea respecto de la aérea es más alta que en otros ecosistemas (Montalvo, 1992). Otra característica importante de estos ecosistemas es su excepcional riqueza florística, la cual ha sido determinada por la conjunción de factores bióticos y ambientales, como son las variaciones climáticas y los cambios de las posiciones relativas de las grandes masas continentales (Blanca y Morales, 1991; López-González, 2001).

No es de extrañar que en la cuenca mediterránea se considere uno de los lugares con mayor biodiversidad del mundo, siendo los endemismos un componente integral y fundamental (Thompson *et al.*, 2005).

En las áreas mediterráneas, las lluvias escasas e irregulares, con largos, secos y calurosos veranos, junto con la presión antropogénica y abandono de suelos agrícolas, son factores determinantes de la degradación del ecosistema (Barea *et al.*, 2006).

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia de endomicorrizas en diferentes ecosistemas de la provincia de Almería en este caso en Sierra Alhamilla y en la Zona Costera-Litoral y evaluar el comportamiento de dichas micorrizas cuando se inoculan en especies hortofrutícolas de interés comercial.

3.2. Hongos micorrízicos.

Un hongo micorrízico, es aquel que tiene la capacidad de asociarse y formar una simbiosis, llamada micorriza, con las raíces de una planta.(Martínez y Pugnaire. 2009).

Un aspecto importante de las micorrizas es su universalidad ya que se encuentran prácticamente en todos los ecosistemas terrestres (Allen, 1991). Actualmente se estima que el 90% de las plantas que crecen sobre la Tierra están micorrizadas (Smith y Read, 2008). Solo en unas pocas familias botánicas hay especies que no forman micorrizas, tal es el caso de las crucíferas, quenopodiáceas y ciperáceas (Barea y Honrubia, 1993).

El hongo, habitante común de los suelos, contacta las raíces y coloniza biotróficamente la corteza de las mismas, sin causar daño a la planta y sin llegar a activar por completo su reacción de defensa (Smith y Read, 2008).

Una vez que el hongo ha colonizado la raíz, desarrolla un micelio externo que coloniza el suelo que rodea la raíz y ayuda a la planta a adquirir nutrientes minerales y agua, además de conferirle una mayor resistencia a los estreses ambientales (Barea *et al.*, 2012). Según esto, en la mayoría de los casos, el órgano de captación de nutrientes de la planta sería la micorriza y no la raíz propiamente dicha (Harley y Smith, 1983). A su vez la planta hospedadora proporciona al hongo simbiote (heterótrofo) compuestos carbonados procedentes de la fotosíntesis, así como un nicho ecológico protegido donde poder completar su ciclo de vida (Brundrett, 2004).

Algunos hongos micorrízicos pueden producir auxinas o sea hormonas que estimulan el crecimiento de los vegetales, y otros producen antibióticos. Esto ayuda a regular el microambiente alrededor de las raíces y contribuye a prevenir la infección de las plantas. Experimentalmente se demostró que los hongos micorrízicos proveen protección contra *Phytophthora infestans* (Carlile *et al.* 2001).

El termino micorriza engloba a muchos y muy diversos tipos de asociaciones entre hongos del suelo y plantas. En un principio se clasificaron a las micorrizas en ectomicorrizas y endomicorrizas (Smith y Read, 1997).

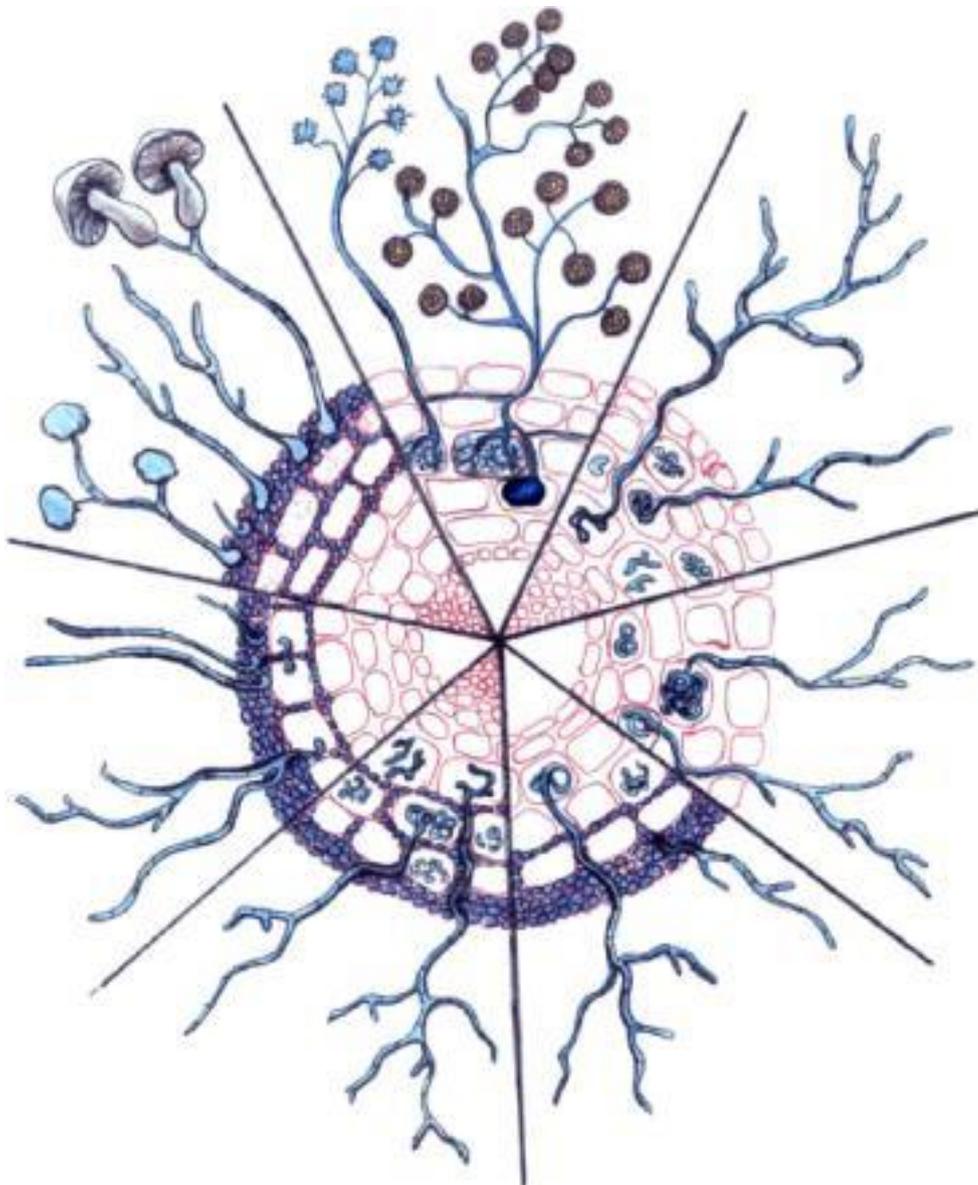


Figura 1: Esquema de tipos de micorrizas. Por Medina-Villena. M.

A pesar de muchas similitudes en cuanto a función y, en algunos casos morfología, se pueden reconocer cinco tipos de micorrizas en base a las estructuras formadas y a la naturaleza de los simbioses implicados (Barea, 1998). Estos cinco tipos de micorrizas se encuadran en 3 grupos tróficos: ectotroficas, ectendotroficas y endotroficas. Este último grupo trófico está formado por las endomicorrizas ericoides, orquidoides y arbusculares. El objeto de esta investigación se centra en este último grupo: los “hongos formadores de micorrizas arbusculares”, comúnmente llamadas por el acrónimo MA (Smith y Read, 1997).

3.2.1. Las Micorrizas Arbusculares.

Los HMA son hongos cosmopolitas que se asocian en las raíces de la mayoría de las especies vegetales (> 85%) y les proporcionan múltiples beneficios: mayor transporte de nutrientes, protección en condiciones de estrés, como: patógenos de hábitos radicales, salinidad, sequía, acidez y elementos tóxicos (Smith y Read, 1997). También son responsables de influenciar la diversidad vegetal y productividad en ecosistemas naturales (Van der Heijden *et al.*, 1998).

Los Hongos Formadores de la Micorriza Arbuscular (HFMA), son microorganismos rizosféricos que pueden ser sujetos de manipulación para la producción de inoculantes (Ferrera–Cerrato y Alarcón, 2008).

Establecen una simbiosis mutualista con las raíces de la mayoría de las plantas (Morton y Benny, 1990); que ayuda a mejorar el crecimiento gracias al sistema de hifas que se desarrollan fuera de la raíz y que permiten una mayor exploración del suelo al incrementar la captación de nutrientes poco móviles (Marschner y Dell, 1994) y la resistencia y/o tolerancia de la planta a la sequía y salinidad (Bago *et al.*, 2000). Además, el uso de HFMA como bioinoculantes contribuye a reducir la aplicación de fertilizantes químicos y otros insumos evitando así mayor contaminación ambiental (Janerete, 1991).

Los HFMA se encuentran en todos los ecosistemas terrestres y en muchos de ellos pueden representar el segundo componente más grande en biomasa del suelo. La obtención de cepas altamente eficientes adaptadas a diversas condiciones, sería una opción para reducir el uso y abuso de los fertilizantes para la explotación agrícola de nuestro país. Se han realizado numerosos estudios en los que se demuestra que la inoculación con HFMA en especies de interés agrícola, hace más eficiente el desarrollo y crecimiento de la planta, y le permite a su vez superar situaciones de estrés biótico y abiótico (Calvet *et al.*, 1992).

Su distribución además de amplia, ya que se encuentran en todos los ecosistemas y suelos, puede ser muy heterogénea en un mismo sitio en cuanto a variedad y cantidad, lo que es un requisito importante para que la planta obtenga el máximo beneficio de la asociación (Sieve y Ewald, 1986).

Esta asociación simbiótica entre el hongo y la planta, actúa como un complemento de la raíz de la planta en la toma de nutrientes (Colo *et al.*, 2000), especialmente en la absorción de P (Requena *et al.* 2007), aumento de la tolerancia a condiciones de stress abiótico, mejoramiento de la calidad del suelo, fijación de N₂ (Barea *et al.*, 2005) y aumento en la diversidad y productividad de las plantas en un ecosistema determinado (Azcón *et al.*, 1997; Van de rhei *et al.*, 1998).

Desde el punto de vista nutricional, el crecimiento de la planta debido al aumento en la absorción de P es el principal beneficio que obtiene del HMA, por la baja disponibilidad de este elemento, característico en los suelos tropicales. Sin embargo, si el P no es un elemento limitante en el suelo, la simbiosis puede llegar a ser reducida o hasta inhibida si se encuentran altos niveles en el suelo (Blanco *et al.*, 1997).

El largo periodo de vida en común de estos hongos y plantas simbiontes ha condicionado el elevado grado de mutualismo y dependencia que los simbiontes muestran entre sí. De hecho, la mayoría de las plantas son "micotróficas", necesitan estar micorrizadas para prosperar, mientras que el hongo MA es un "simbionte obligado"(Barea y Azcon-Aguilar, 2012) Esta es una de las principales limitantes del

estudio de este grupo de hongos, ya que no es posible su multiplicación en condiciones axénicas (Bago y Cano, 2005).

Las bases fundamentales sobre las que se establece la simbiosis son nutritivas: los hongos MA reciben fotosintatos de la planta a cambio de una mejora en la toma de nutrientes, fundamentalmente fósforo, que es el elemento limitante en el ecosistema terrestre (Bucher, 2007), pero también potasio, calcio, magnesio, azufre, hierro, zinc, cobre, manganeso (Boomsma y Vyn, 2008), así como agua del suelo, dada la mayor accesibilidad del micelio externo del hongo a recursos del suelo más distantes del sistema radical (Ferrol and Pérez-Tienda, 2009). No obstante, la asociación genera otros beneficios, entre los que destacan una mayor resistencia de la planta micorrizada al ataque de patógenos del sistema radical (Hooker *et al.*, 1994; Pozo *et al.*, 2009), a la presencia de metales pesados en el suelo (del Val *et al.*, 1999; González-Guerrero *et al.*, 2009), al estrés hídrico (Auge, 2001; Ruiz-Lozano y Aroca, 2010) o a condiciones extremas de pH del suelo (Clark *et al.*, 1999; Oliveira *et al.*, 2005; Cornejo *et al.*, 2008). Además, la red de hifas extra radicales y ciertas sustancias secretadas por el hongo durante la asociación favorecen la formación de agregados estables en el suelo y, por tanto, la conservación de la estructura física del mismo (Wright and Upadhyaya., 1998; Jeffries y Barea, 2012). Es por esto que las MA desempeñan un papel fundamental en la supervivencia y desarrollo de las plantas, sobre todo, en suelos sometidos a condiciones de estrés (sequía, salinidad, cambios bruscos de temperatura, deficiencia de nutrientes), como los que caracterizan a los ecosistemas mediterráneos (Requena *et al.*, 2001; Sánchez-Castro *et al.*, 2012).

Existe controversia en torno a cómo la diversidad de las comunidades de HMA tiende a disminuir en ecosistemas naturales transformados a agroecosistemas (Sieve *et al.*, 1991)

Los monocultivos por ejemplo después de años de manejo agrícola pueden reducir la abundancia de las especies fúngicas (Sieve *et al.*, 1991; Oehl *et al.*, 2003).

Aparentemente, las especies de HMA no tienen especificidad en la elección de sus hospederos. Sin embargo, diferencias en los efectos que las especies de HMA causan sobre el crecimiento de los individuos de especies vegetales, indican que éstas responden a especies específicas de HMA y consecuentemente, hay un aumento en la diversidad y productividad de las plantas en un ecosistema determinado (Van der heijden., 1998).

3.2.2. Evolución de los hongos MA.

El origen de los hoy conocidos como hongos MA es muy antiguo, se remonta a la existencia de un ancestro que desarrolló una estrategia de reconocimiento y unas estructuras que posibilitaron la infección de organismos autótrofos (Tehler *et al.*, 2000). Estas características se consideran sinapomorficas para un grupo de hongos quitinosos que Tehler *et al.*, (2003) llamaron *Symbiomycota*. Existen evidencias paleontológicas que apoyan la hipótesis de que estos hongos se desarrollaron en simbiosis con organismos foto autótrofos bastante antes de que se produjera la evolución de las plantas terrestres (Yuan *et al.*, 2005).

En rizomas fósiles datados en el periodo Devónico, hace más de 400 millones de años, se han detectado arbuscúlos similares a los que pueden observarse en las micorrizas actuales (Remy *et al.*, 1994). Es más, existen referencias (Redecker *et al.*, 2000) en las que se describe la presencia de hifas y esporas “tipo Glomeromycota” datadas en unos 460 millones de años, lo que corresponde al periodo Ordovícico. Los datos obtenidos por aproximaciones moleculares incluso sugieren un origen bastante anterior para el phylum Glomeromycota, entre 600 millones de años (Berbee y Taylor, 2001) y 1000 millones de años (Heckman *et al.*, 2001). Parece ser que los hongos MA probablemente establecieron relaciones, quizás no mutualistas en un principio, con los ancestros de los primitivos briofitos, antecesores de las plantas vasculares, por lo que se infiere que estos hongos tuvieron una influencia decisiva en el origen y evolución de las plantas. Todo esto indica que esta simbiosis micorrizica surgió y evolucionó con anterioridad al establecimiento de las plantas en tierra firme y no como consecuencia

de este hecho (Tehler *et al.*, 2003).

En la actualidad, se cree que este grupo de hongos tan antiguo ha sido fundamental en el proceso de colonización terrestre por parte de las plantas (Pirozynski y Malloch, 1975; Simon *et al.*, 1993a; Schiissler, 2002). Los hongos pertenecientes al phylum Glomeromycota han podido jugar un papel clave en la capacidad para adquirir agua por parte de las primeras plantas terrestres, carentes de raíces en sus primeras etapas (Brundrett y Abbott, 2002). De acuerdo con lo que antecede, es probable que la mejora en la capacidad de acceso de las plantas a las fuentes limitantes de recursos, tales como el fosforo, haya sido la clave para el salto de las plantas a tierra firme (Helgason y Fitter, 2005).

Los hongos MA no poseen una reproducción sexual reconocida, producen esporas de resistencia que se forman sobre hifas vegetativas y son multinucleadas, aunque el número de núcleos es variable pudiendo llegar hasta 20.000 núcleos por espora (Ferro *et al.*, 2004; Smith y Read, 2008).

3.2.3. Clasificación y filogenia de los hongos MA.

Los primeros intentos de clasificar los hongos MA datan de finales del siglo XIX y comienzos del XX y se basaron exclusivamente en criterios morfológicos referenciados en las esporas. En estos estudios estos hongos se incluyeron en la familia Endogonaceae dentro del phylum Zygomycota (Gerdemann y Trappe, 1974). En los últimos años la sistemática del grupo de hongos formadores de MA ha sufrido varias modificaciones, sobre todo por la incorporación de técnicas moleculares en el estudio de la filogenia de estos hongos. Actualmente se ha demostrado la naturaleza monofilética de este grupo de hongos mediante el análisis de 18S ADNr. Esto ha permitido incluirlos en un nuevo phylum, denominado Glomeromycota (Schiipier *et al.*, 2001). En la actualidad este phylum es motivo de debate y posee dos posibles clasificaciones que se muestran a continuación (Tablas 1 y 2).

Tabla 1 :Clasificación de los hongos MA según **Kruger et al.,2012.**

CLASE	ORDEN	FAMILIA	GENERO
<i>Glomeromycetes</i>	<i>Glomerales</i>	<i>Glomeraceae</i>	<i>Glomus</i> <i>Funneliformis</i> <i>Septoglomus</i> <i>Rhizophagus</i> <i>Sclerocystis</i> <i>Claroideoglomus</i>
	<i>Diversisporales</i>	<i>Diversisporaceae</i>	<i>Diversispora</i> <i>Redeckera</i>
		<i>Pacisporaceae</i> <i>Acaulosporaceae</i>	<i>Pacispora</i> <i>Acaulospora</i>
		<i>Gigasporaceae</i>	<i>Scutellospora</i> <i>Gigaspora</i> <i>Racocetra</i>
	<i>Archaeosporales</i>	<i>Ambisporaceae</i>	<i>Ambispora</i>
		<i>Archaeosporaceae</i> <i>Geosiphonaceae</i>	<i>Archaeospora</i> <i>Geosiphon</i>
	<i>Paraglomerales</i>	<i>Paraglomeraceae</i>	<i>Paraglomus</i>

Tabla 2 :Clasificación de los hongos MA según Oehl et al.,2011.

CLASE	ORDEN	FAMILIA	GENERO	
<i>Glomeromyces</i>	<i>Glomerales</i>	<i>Glomeraceae</i>	<i>Glomus</i>	
			<i>Funneliformis</i>	
			<i>Septoglomus</i>	
			<i>Simiglomus</i>	
			<i>Entrophosporaceae</i>	
		<i>Diversisporales</i>	<i>Diversisporaceae</i>	<i>Claroideoglomus</i>
				<i>Albahypha</i>
				<i>Triscospora</i>
				<i>Entrophospora</i>
				<i>Diversispora</i>
	<i>Gigasporales</i>	<i>Sacculosporaceae</i>	<i>Redeckera</i>	
			<i>Otophora</i>	
			<i>Tricispora</i>	
			<i>Sacculospora</i>	
			<i>Pacisporaceae</i>	
		<i>Acaulosporaceae</i>	<i>Pacispora</i>	
			<i>Acaulospora</i>	
			<i>Kuklopora</i>	
			<i>Scutellosporaceae</i>	<i>Scutellospora</i>
				<i>Orbispora</i>
<i>Fuscutata</i>				
<i>Dentiscutataceae</i>	<i>Dentiscutata</i>			
	<i>Ouatunica</i>			
	<i>Racocetraceae</i>	<i>Cetraspora</i>		
		<i>Racocetra</i>		
<i>Gigasporaceae</i>	<i>Gigaspora</i>			
<i>Archaeosporomycetes</i>	<i>Archaeosporales</i>	<i>Ambisporaceae</i>		
		<i>Archaeosporaceae</i>		
		<i>Ambispora</i>		
		<i>Archaeospora</i>		
		<i>Intraspora</i>		
		<i>Geosiphonaceae</i>		
		<i>Geosiphon</i>		
<i>Paraglomeromyces</i>	<i>Paraglomerales</i>	<i>Paraglomeraceae</i>	<i>Paraglomus</i>	

3.2.4. Ciclo de vida de las micorrizas.

En los hongos MA no se ha demostrado una reproducción sexual reconocida sino que producen esporas de resistencia multinucleadas, pudiendo llegar hasta los 20.000 núcleos por espora (Ferrol *et al.*, 2004). El ciclo de vida se inicia partiendo de los propágulos de estos hongos, que se mantienen en el suelo en forma de esporas, redes de micelio, o colonizando raíces activas o fragmentos de estas que permanecen en el suelo (Sánchez-Castro, 2009). La figura 3 resume el ciclo de vida de las micorrizas arbusculares.

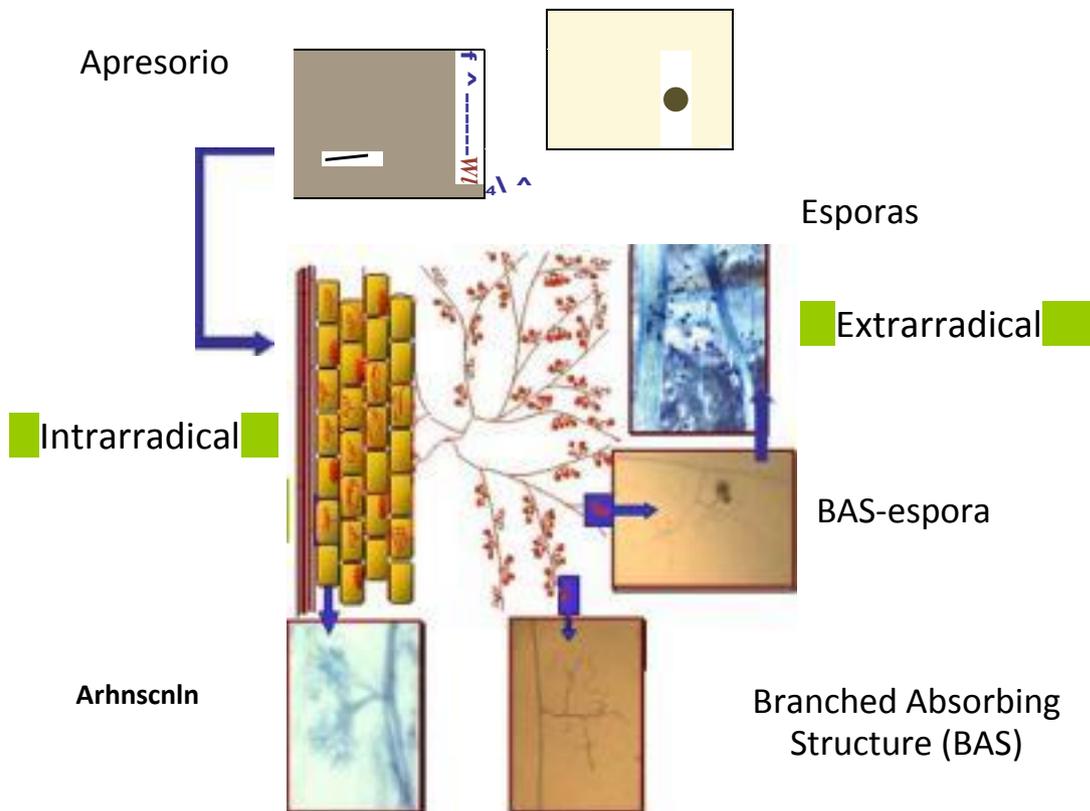


Figura2: Ciclo de vida de los hongos formadores de MA (Tornado de Porcel *et al.*, 2012).

La “fase intrarradical” que incluye hifas intra e intercelulares, arbusculos y, en algunas especies, vesículas (Figura 3). La colonización de la raíz solo ocurre en la epidermis y el parénquima cortical, ya que Las MA tienen dos componentes bien diferenciados: la “fase extra radical” del hongo en la que se incluyen el micelio externo, esporas y ocasionalmente células auxiliares, y el hongo nunca llega a penetrar en el cilindro vascular ni las zonas meristematicas (Barea *et al.*, 2008).

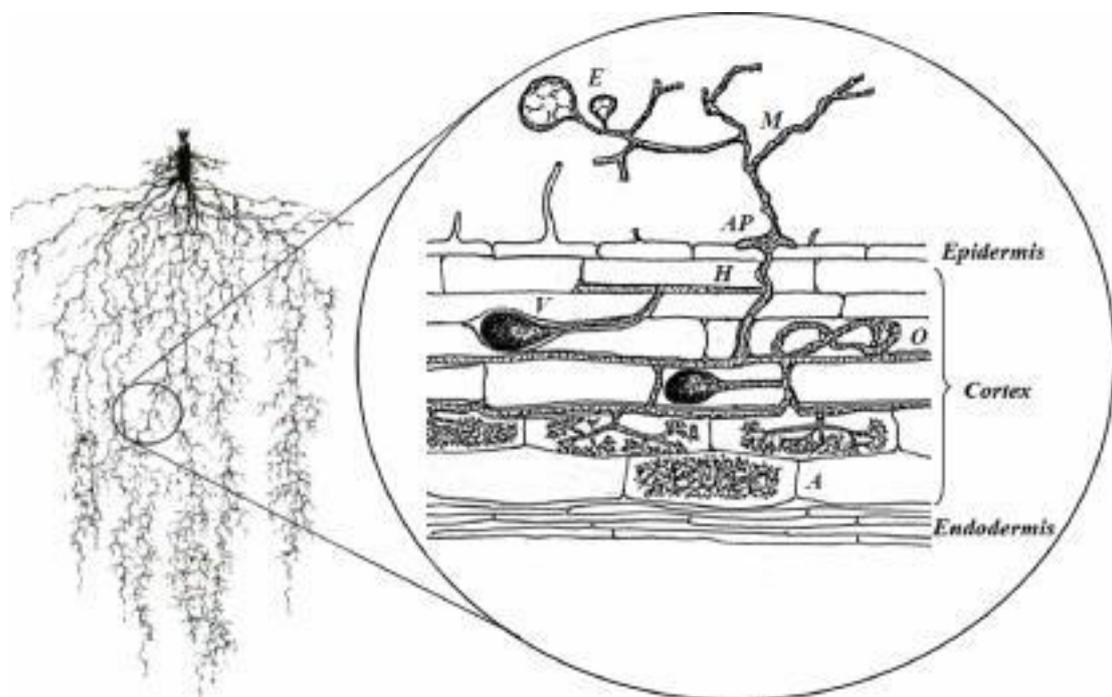


Figura 3:Esquema de las estructuras anatómicas de las MA. Abreviaturas: A, arbusculo; AP.apresorio; E, espora; H, hifa intercelular; M, micelio extra radical; O, ovillo; V, vesícula. (Tornado de Palenzuela and Barea. 2002).

El proceso de formación de las MA tiene lugar tras una sucesión de interacciones entre el hongo y la planta, que van a dar lugar a una integración morfológica y funcional de ambos simbios (Gianinazzi-Pearson *et al.*, 2004). Como resultado, la planta acepta la colonización por parte del hongo sin mostrar una reacción de defensa persistente (Dumas-Gaudot *et al.*, 2000; Pozo *et al.*, 2002). El establecimiento de la simbiosis es el resultado de un continuo dialogo molecular y un esfuerzo mutuo para aceptar el intercambio de señales de reconocimiento tanto de la planta como del hongo (Gollotte *et al.*, 2002; Vierheilig and Piche, 2002). La identificación y donación de los genes de la

planta implicados en el programa simbiótico en MA (Gianinazzi-Pearson y Brechenmacher, 2004) y el conocimiento de los programas de señales involucrados en la formación y funcionamiento de la simbiosis (Harrison, 2005) son objeto de gran interés en la actualidad.

3.2.5. Significado de los hongos MA en el sistema suelo-planta.

El nombre “arbuscular” hace referencia a la estructura fúngica intraradical más característica de este tipo de simbiosis, el arbusculo (Gallaud, 1905), aunque en otras muchas ocasiones también es muy característico la presencia de vesículas, que son estructuras fúngicas de almacenamiento formadas entre las células vegetales, por lo que durante mucho tiempo se utilizó el término micorriza vesículo arbuscular (VAM, por sus siglas en inglés “Vesicular Arbuscular Mycorrhiza”) (Smith y Read, 1997) para definir este tipo de asociación. Actualmente el término vesicular no se utiliza, pues no todos los hongos que forman micorriza arbuscular forman vesículas. Además de las estructuras intraradicales, el hongo formador de micorriza arbuscular desarrolla una red de micelio externo a la raíz, que conecta la planta con los microhabitats del suelo, y que es más eficaz que la propia raíz para extraer nutrientes y agua del mismo (Smith y Read, 2008).

La simbiosis MA está considerada como la simbiosis más antigua desde el punto de vista evolutivo (Pirozynski y Malloch, 1975), y prueba de ello es que se han encontrado hifas y arbusculos en fósiles de *Aglaophyton*, evidenciándose la existencia de micorrizas al principio del Devónico (Remy *et al.*, 1994; Taylor *et al.*, 1995). Incluso se han encontrado fósiles de esporas de hongos formadores de MA datadas en 460 millones de años de antigüedad, en la época del Ordovicio (Redecker *et al.*, 2000). Los resultados recientes de análisis y comparación de divergencias de las secuencias de nucleótidos del ARN ribosómico (ARNr) 18s de hongos formadores de micorriza arbuscular sugiere que esta micorriza surgió hace 350 - 460 millones de años. Teniendo en cuenta que en este periodo del Ordovicio tuvo lugar la colonización del medio terrestre por las plantas a partir del medio acuático, se postula que la simbiosis fue necesaria para la colonización de ese medio terrestre por parte de las plantas

(Pirozynski y Malloch, 1975; Simon *et al.*, 1993; Redecker *et al.*, 2000). Quizá sea esta larga co-evolución conjunta la causa de una de las características principales de este tipo de hongos, su carácter de biotrofos obligados. Este hecho condiciona la necesidad del hongo de encontrar y colonizar una raíz hospedadora para poder continuar su crecimiento y completar su ciclo de vida, con la formación de nuevos propágulos viables (Shachar-Hill *et al.*, 1995; Solaiman y Saito, 1997; Bagoet *et al.*, 2000). Esta circunstancia es una de las principales limitantes del estudio de la biología de los hongos MA, así como de los desarrollos biotecnológicos que permitan sus aplicaciones prácticas.

Las MA tienen un alto potencial ecológico, ya que estas asociaciones se han encontrado en las diferentes partes del planeta y en todas las latitudes, desde latitudes altas, como el norte del Círculo Polar Ártico (Newsham *et al.*, 2009) y la Antártida (DeMars y Boemer, 1995), hasta en bosques tropicales (Alexander y Selosse, 2009), y en ecosistemas terrestres de todo el mundo, incluyendo tanto los sistemas naturales como los afectados por la actividad humana (Chaudhary *et al.*, 2008). El hecho de que se encuentre en casi todos los parajes del planeta puede estar en concordancia a su historia evolutiva conjunta con las plantas. En estos distintos ecosistemas, los hongos formadores de MA al igual que los otros tipos de hongos formadores de micorrizas, además de interactuar con las plantas también lo hacen con otros microorganismos, y a esta zona de influencia fúngica donde interactúan micorrizas-plantas-microorganismos se le denomina micorrizosfera, e incluye la zona de la rizosfera más la zona de las hifas extra radicales (Rambelli, 1973).

Por otro lado, y en base a un análisis molecular basado en la secuencia de la subunidad pequeña (SSU, por sus siglas en inglés "Small Subunit Ribosomal") del ARNr (Kruger *et al.*, 2012) solo se han identificado, hasta el momento, unas 230 especies de hongos formadores de MA, pertenecientes a la división *Glomeromycota*. Si comparamos esta cifra frente a la gran variedad de plantas que son micorrizadas es fácil deducir que cada hongo tiene un amplio rango de hospedadores, no existiendo especificidad. No obstante, y aunque la interacción hongo MA- planta no es específica, la compatibilidad

y funcionalidad de la simbiosis no es la misma para todas las posibles interacciones entre las distintas especies de hongos y plantas hospedadoras.

Los hongos formadores de MA desarrollan esporas multi nucleadas de resistencia sobre hifas vegetativas (Becard y Pfeffer, 1993; Hosny *et al.*, 1998). Aunque se acepta que 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). Existen, además, indicios de variabilidad genética dentro de una misma espora, lo que se manifiesta por la presencia de polimorfismos a nivel de la secuencia de los genes que codifican el ARN ribosómico (Lanfranco *et al.*, 1999; Clapp *et al.*, 2001), así como el número de estos *loci* en un mismo núcleo (Trouvelot *et al.*, 1999). Además los hongos MA podrían aumentar su patrimonio genético mediante el intercambio de núcleos de unas colonias fúngicas con otras. 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 puesto de manifiesto 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).

En cuanto a las características del genoma de los hongos MA, se ha observado la existencia tanto de secuencias de copia única como de secuencias repetidas, ocupando estas en *G. irregulare* alrededor del 1,6% de su genoma (Hijri y Sanders, 2004). Se han encontrado secuencias con homología con *Long Terminal-Repeats* (LRTs) de retrotransposones (Gollotte *et al.*, 2006). Además el genoma de estos hongos contienen un bajo contenido de GC, en torno al 35% (Martin *et al.*, 2008), con casi el 25% de la citosina metilada, un valor bastante alto para hongos.

La formación de MA aporta unos beneficios a la planta, que podemos recoger de manera resumida en los siguientes siete puntos:

1. Incremento en la absorción de nutrientes desde el suelo, principalmente debido a la captación por las hifas extra radicales fúngicas, que exploran el suelo distante de la raíz donde no hay agotamiento de nutrientes (George, 2000). Las hifas de los hongos formadores de MA, al igual que las raíces secundarias de la planta, son órganos de absorción de nutrientes, pero con la diferencia que las raíces secundarias tienen un diámetro de 5-20µm (Wulfsohn y Nyengaard, 1999), y las hifas de 3-7 µm (Bago *et al.*, 2000), lo que unido a que la densidad de las hifas es de 10 a 100 veces mayor que la de las raíces (Dodd *et al.*, 2000), supone que las hifas del hongo amplían enormemente la superficie efectiva de absorción de nutrientes de la planta más amplia de la zona de agotamiento.

Entre los nutrientes aportados por el hongo a la planta destaca el fósforo, nutriente esencial que puede ser limitante para el desarrollo de la planta (Holford, 1997). Las hifas del micelio extra radical incorporan de forma muy rápida (Ezawa *et al.*, 2004) y efectiva el fosforo inorgánico, debido a que contienen transportadores de alta afinidad de fosfato (Harrison y Van Buuren, 1995). El fosfato captado se polimeriza formando cadenas de poli fosfatos que se acumulan, sobre todo en las vacuolas, para evitar un incremento de la presión osmótica que dificultaría el funcionamiento normal del hongo (Rasmussen *et al.*, 2000), y así es transportado al micelio intra radical, donde es hidrolizado, liberándose el fosfato mediante la actividad de ciertas fosfatasas presentes en las vacuolas (Gianinazzi-Pearson y Gianinazzi, 1978).

Además del fósforo, los hongos formadores de micorriza arbuscular aportan otros nutrientes a la planta, tales como el nitrógeno. La absorción de nitrógeno por el hongo es sobre todo en forma inorgánica, tanto de amonio, mediante transportadores específicos (Breuninger *et al.*, 2004), como de nitrato, aunque también se ha descrito cierta capacidad de transporte de N orgánico (Hodge *et al.*, 2001), especialmente aminoácidos. La transferencia del N a la planta, facilitada por la enzima nitrato reductasa (Kaldorf *et al.*, 1998), ocurre en un proceso asociado al ciclo de la urea y al transporte de poli fosfato (Govindarajulu *et al.*, 2005).

Por último, también el hongo ayuda en la absorción de micronutrientes, y participa tanto en la absorción de estos elementos, como en su bio remediación (almacenamiento y retención) dentro de las estructuras fúngicas, evitando que se concentren en la planta provocando toxicidad (Mohammadi-Goltapeh *et al.*, 2008). Además, se ha descrito que los hongos formadores de micorriza arbuscular incrementan la absorción de hierro debido a la producción de sideróforos (Karimi *et al.*, 2011).

La mayor capacidad de captación de nutrientes en plantas micorrizadas repercute directamente en un mayor crecimiento, siendo este efecto crecimiento uno de los más aparentes beneficios de la micorrización.

2. Incremento de la capacidad de tolerancia frente a estreses abióticos, tales como:

a) Estrés hídrico, como consecuencia de la adquisición de agua y nutrientes en suelos secos, donde estos son menos disponibles y el hongo MA ayuda a su absorción (Porcel y Ruiz-Lozano, 2004; Mohammadi-Goltapeh *et al.*, 2008).

b) Estrés salino, debido al mantenimiento del balance $K^+ : Na^+$, por cambios bioquímicos (acumulación de prolina, betainas, poliaminas, carbohidratos y antioxidantes), cambios fisiológicos (eficiencia fotosintética, permeabilidad relativa, acumulación de ABA, incremento de la nodulación y fijación del nitrógeno), cambios moleculares debidos a la regulación de la expresión de genes de adaptación y respuesta al estrés (*PIP*, anti transportadores Na^+ / H^+ , *Lsnced*, *Lslea* y *LsPtCS*) y cambios estructurales (Aroca *et al.*, 2007; Evelin *et al.*, 2009; Shekoofeh *et al.*, 2012).

c) Tolerancia al exceso de metales pesados, activando mecanismos que se dan dentro de las células de hongos que implican que la acción de iones metálicos, ligándose a poli fosfatos y metalotioneinas, compartimentación dentro de las vacuolas y activando genes tales como los de Glutaredoxinas involucradas en la defensa celular a través del estrés oxidativo (Arriagada *et al.*, 2007; Hildebrandt *et al.*, 2007; Regvar *et al.*, 2008; Benabdellah *et al.*, 2009).

3. La formación de micorriza arbuscular incrementa la actividad fotosintética de la planta, y así lo avalan numerosos trabajos de investigación (Wright *et al.*, 1998; Valentine *et al.*, 2001).

4. También existe un efecto beneficioso sobre la mejora de la estructura del suelo, aspecto de gran importancia para el desarrollo de las plantas, ya que un suelo con una buena estructura facilita la infiltración de agua, agiliza los ciclos biogeoquímicos de nutrientes, tiene una mayor resistencia a la erosión y contiene un mayor contenido de carbono (Rillig y Steinberg, 2002). Las hifas de los hongos micorrizicos están implicadas en la formación de agregados estables del suelo, un aspecto clave de la calidad del mismo. El micelio extra radical y las propias raíces actúan como nexo de unión de las partículas orgánicas e inorgánicas del suelo (Miller y Jastrow, 2000). Las hifas secretan a la superficie grandes cantidades de glicoproteína glomalina (Rillig *et al.*, 2001), caracterizada como un homólogo putativo de la proteína de choque térmico hsp 60 (hsp, por sus siglas en inglés “heat shock protein”) (Gadkar y Rillig, 2006). La hidrofobicidad de esta molécula permite que las hifas extra radicales se sujeten más fuertemente a la superficie y así incrementar el proceso de enmarañamiento para aumentar la superficie de absorción de la planta (Miller y Jastrow, 2000). Además, la glomalina se ha propuesto para mejorar la estabilidad del suelo, ya que se ha observado que existe una fuerte relación entre la concentración de glomalina y la cantidad de agregados estables al agua (Wright *et al.*, 2007).

5. La formación de MA aumenta la capacidad de competir de la planta, al mejorar por ejemplo el desarrollo de sus semillas (Pietikainen y Kytoviita, 2007).

6. También la micorrización proporciona efecto protector a la planta frente a diversos patógenos, como hongos (Azcon-Aguilar *et al.*, 2002; Pozo *et al.*, 2002; Xavier y Boyetchko, 2004; St-Amaud y Vujanovic, 2007; Khaosaad *et al.*, 2007), bacterias (Wu *et al.*, 2011) o nematodos (Vos *et al.*, 2012), tanto a nivel local como sistémico. La bioprotección mediada por micorrización puede deberse a diferentes mecanismos (Vierheilig *et al.*, 2008), entre otros:

a) Competencia directa, bien por sitios de infección (Cordier *et al.*, 1998) o por carbono (Azcon-Aguilar *et al.*, 2002).

b) Incremento de tolerancia y resistencia mediado por alteración en el crecimiento, la nutrición y la morfología de las plantas como consecuencia de la micorrización. Se sugiere, por ejemplo, que los nutrientes que absorbe por el micelio extra radical de la MA podrían compensar la reducción del sistema radicular por el patógeno (Singh *et al.*, 2000). Además con la colonización MA se altera el peso fresco de la raíz, el tamaño total de la raíz, el número de raíces secundarias y el grado de ramificación (Copetta *et al.*, 2006), características estas que podrían estar involucradas en un efecto bioprotector.

c) También se han observado alteraciones bioquímicas y moleculares en plantas micorrizadas que inducen resistencia a patógenos, como la producción de enzimas hidrolíticas, aumento de niveles de proteínas PR-1 (Cordier *et al.*, 1998), acumulación de fitoalexinas (Larose *et al.*, 2002) y calosa (Cordier *et al.*, 1998), acumulación de ácido salicílico (Herrera Medina *et al.*, 2003) y especies de oxígeno reactivo (Salzer *et al.*, 1999). Estos cambios pueden ser locales y/o sistémicos y pueden ser la base molecular del mecanismo de resistencia inducida por micorrización (MIR) (Pozo y Azcon-Aguilar, 2007).

7. Por último, la micorrización facilita que se produzca una transferencia de nutrientes, ya que en la naturaleza diferentes plantas están micorrizadas por un mismo hongo formando así una red interconectada (Jakobsen, 2004; Smith y Read, 2008). Esta conexión entre plantas por parte de las micorrizas permite que cuando una planta micorrizadas muere se produzca una transferencia de sus nutrientes a otras plantas que compartan su mismo micelio fúngico (Eason *et al.*, 1991), favoreciendo la regeneración de la materia orgánica, y la mejora nutricional del resto de las plantas micorrizadas.

Todos estos beneficios sobre las plantas justifican el interés del estudio de las MA, así

como su aplicación en Agricultura, siendo beneficiosas en sistemas de producción sostenible de los cultivos, principalmente porque contribuyen a la reducción de la entrada de fertilizantes químicos y pesticidas (Jeffries y Barea, 2001; Baar, 2008). No obstante, los sistemas agrícolas suelen estar muy perturbados y las propias prácticas de cultivo a menudo dan a los hongos simbióticos formadores de MA o las plantas hospedadoras (Ellouze *et al.*, 2008), por lo que el máximo potencial de esta simbiosis rara vez se da en los campos cultivados, lo que genera una ineficiencia en la función de estos ecosistemas (Ellouze *et al.*, 2008). Las prácticas que provocan la disminución de la capacidad de esta simbiosis son varias, y por ejemplo un exceso de fertilizantes puede provocar un exceso de P en el suelo lo que conllevaría a elevar su concentración en los tejidos vegetales y así disminuir la colonización de los hongos MA en las plantas (Covacevich *et al.*, 2007), al igual que la labranza del suelo para el control de malezas provoca fragmentación del micelio fúngico (Kabir, 2005; Sheng *et al.*, 2011). También se reduce el potencial de esta asociación MA con el uso de algunos herbicidas (Malty *et al.*, 2006), fungicidas (von Alten *et al.*, 1993) e insecticidas (Wan y Rahe, 1998).

La simbiosis MA también juega un papel importante en la restauración de zonas desérticas (Saito y Marumoto, 2002), ya que ayuda a la planta a adaptarse a esta situación de estrés (Mohammadi-Goltapeh *et al.*, 2008). Además, su uso en la reforestación esta cada vez más generalizado, ya que el hongo se considera clave en las primeras etapas del establecimiento de las plantas, en especial en suelos afectados por procesos erosivos, incendios, laboreo excesivo, contaminación, etc., ya que entre otros beneficios incrementa la fertilidad del suelo y la agregación de las partículas del suelo (Mohammadi-Goltapeh *et al.*, 2008; Fuchs y Haselwandter, 2008).

Materiales y Métodos

4. Materiales y métodos.

4.1. Introducción.

Las micorrizas arbusculares (MA) constituyen el tipo de simbiosis más ampliamente representado en la naturaleza. Se estima que está presente en el 80% de las plantas, principalmente Angiospermas, así como en Gimnospermas, Briofitas y Pteridofitas. Los hongos que las forman son microscópicos, en contraste con los demás hongos formadores de micorrizas. La principal característica morfológica de estos hongos son los arbusculos, estructuras típicas de la colonización que el hongo desarrolla en el interior de las células de la corteza de la raíz por ramificación dicotómica repetida de sus hifas.

Los hongos MA y las plantas han evolucionado en una estrecha relación desde hace más de 400 millones de años. Quizás sea esta evolución conjunta la causa de una de las características y colonizar una raíz hospedadora para poder continuar su crecimiento y completar su ciclo de vida, que culmina con la formación de nuevos propágulos principales de este tipo de hongos, su carácter de biotrofos obligados. Esto condiciona que el hongo tenga la necesidad de encontrar viables.

En este trabajo se estudiará la presencia de micorrizas en dos zonas autóctonas de la provincia de Almería y su influencia en el cultivo del maíz.

Dando positivo este estudio procederemos a la inoculación de dichas micorrizas en el cultivo del melón y observaremos la influencia de esta en el melón.

El trabajo se ha dividido en dos fases, en cuanto a instalaciones empleadas en la realización del mismo se refiere. Por un lado, una parte de laboratorio, para la cual se ha empleado el laboratorio de protección vegetal de la universidad de Almería, donde se han realizado todas las operaciones previas y posteriores al trabajo, como diseño de los tratamientos, preparación de disoluciones, toma de datos (pesos secos de la parte aérea de las plantas, volumen radicular, etc.).

Por otro lado una parte de campo donde se seleccionaron muestras de dos ecosistemas representativos de la provincia de Almería, Sierra de Alhamilla (SA) y de la Zona Costera - Litoral (LIT).

Los muestreos de los diferentes ecosistemas se realizaron el 31 de enero de 2015.

Las muestras se tomarán de la rizosfera de plantas y/o arbustos presentes en los diferentes ecosistemas a una profundidad de entre 5-15 cm y aproximadamente de 1 kg.

Se obtendrán diferentes números de muestras:

- **Sierra de Alhamilla (SA):** 15 muestras.
- **Zona Costera-Litoral (LIT):** 10 muestras.

4.2. Preparación del sustrato.

Para la colocación del sustrato empleamos macetas de 1L de volumen.

Para la preparación del sustrato se utilizaron 0,5L de vermiculita previamente esterilizada en una autoclave, humedecimos la vermiculita y la mezclamos con el suelo procedente de las distintas zonas. Posteriormente realizamos cuatro repeticiones por cada muestra.

4.3. Captura de micorrizas.

Para la captura de las micorrizas se empleó como planta trampa maíz (*Zea mays*); las semillas de maíz se pre germinaron a temperatura y humedad controlada de 25°C y a 85%. El 10 de febrero se procedió a sembrar las semillas de maíz germinado en las macetas. Se sembraron 4 semillas/maceta, por lo que en cada muestra de suelo se sembraron 16 plantas de maíz. Asimismo, se sembraron siguiendo el mismo procedimiento, una muestra control (mezcla de suelo esterilizado más vermiculita) y otra inoculada con *Glomus*spp. Por lo que en total se sembraron 832 plantas de maíz.

Finalmente, se trasladaron las plantas a los invernaderos de la Universidad de Almería. La frecuencia de riego fue variable en función de las necesidades de las plantas y no se fertilizaron en ningún momento, para favorecer el proceso de micorrización.

Para la determinación de los distintos parámetros a estudiar las plantas fueron cortadas entre el 21 y 24 de abril del 2015 a los 77 días de su siembra.

4.4. Medición de los diferentes parámetros.

Una vez crecidas las plantas se sacaron de sus respectivas macetas y se procedió al lavado de las raíces.



Imagen 1: Plantas de maíz con las raíces lavadas.

4.4.1. Parámetros a medir:

4.4.1.1. Volumen radical.

Procederemos a medir el volumen radical separando la parte aérea de la parte radicular.

El volumen radicular de cada muestra se determinará sumergiendo la raíz de cada maceta (cuatro plantas) en un vaso de precipitados con un volumen de 100 mL y observando el cambio de volumen. Realizaremos este procedimiento en todas las repeticiones (cuatro repeticiones de cuatro plantas cada repetición) en cada una de las diferentes zonas de cada suelo (Sierra de Alhamilla y la zona Costera-Litoral). También

realizaremos este procedimiento en las plantas de control y en las plantas de testigo (*Glomus*).

4.4.1.2. Peso seco.

Una vez separada la parte aérea de las plantas de la parte radicular, procederemos a calcular el peso seco de la planta y para ello cogemos la parte aérea y la secaremos en una estufa a 80°C en el laboratorio de Patología vegetal de la EPS de la Universidad de Almería. Una vez secas se procederá a su pesado con una balanza de precisión.

Al igual que con la toma de datos del volumen, pesaremos las cuatro partes aéreas de las cuatro plantas que hay por maceta, ya que en el caso del volumen radicular lo hemos hecho así, obteniendo finalmente una media del peso seco de la parte aérea de cada zona de cada tipo de suelo.

Como en el caso del volumen también realizaremos este procedimiento en las plantas de control y en las plantas de testigo (*Glomus*).

4.5. Determinación de presencia y abundancia de endomicorrizas.

Para la determinación de endomicorrizas se extraerán de cada muestra un 25% aproximado del volumen radicular total. Una vez obtenido esto procederemos a cortar las raíces 1 cm aproximadamente de longitud.



Imagen 2: Raíces de maíz seccionadas.

Posteriormente se procederá a realizar la tinción según la metodología de Phillips y Hayman (1970). Para ello realizaremos los siguientes pasos:

- **Paso 1:** Una vez cortadas las raíces aproximadamente 1 cm de longitud se colocaran en un recipiente de cristal. Para proceder a la tinción se les adiciona hidróxido de potasio KOH al 10% (10 g en 100 ml de agua) hasta cubrir las raíces totalmente.



Imagen 3: Raíces de maíz con KOH al 10%.

Seguidamente se llevan los recipientes a baño maría a 90°C durante 15 minutos y al transcurrir ese tiempo se lavan las raíces con agua.



Imagen 4: Modo de empleo del lavado de las raíces de maíz.

- **Paso 2:** A continuación se realiza la inmersión de las raíces en solución de H₂O₂ al 10% (agua oxigenada) durante 10 minutos para que se blanqueen, posteriormente se

retiran las raíces de la solución, se lavan y se le adiciona ácido clorhídrico HCl 1, 1N durante 10 minutos.



Imagen 5: Raíces de maíz con HCL.

- **Paso 3:** Se decanta el HCl, sin lavar se adiciona a estas muestras azul tripán y se colocan al baño maría durante 10 minutos a 90°C. Empleamos el azul para poder observar las raíces a través del microscopio y ver si en ellas hay presencia de micorrizas.

La composición del azul tripán fue la siguiente: 0.3 g de azul tripán, 200 ml de glicerol, 200 ml de ac. Láctico y 200 ml de agua destilada.



Imagen 6: Raíces de maíz con azul tripán.

Inmediatamente se lavan las raíces y se dejan en reposo 5 días a temperatura ambiente.

Para conservar las raíces teñidas se hace en ácido láctico con agua al 50%.

- **Paso 4:** Una vez transcurridos los días cogeremos una muestra de cada tipo de suelo y miraremos si hay presencia de micorrizas.

Materiales y métodos

Para cuantificar la presencia de micorrizas se seleccionarán 20 trozos de aproximadamente 1 cm de longitud de las raíces de las que dieron positivo en la presencia de micorrizas, se colocan en un portaobjetos y se cubren con los cubreobjetos.

Una vez realizado esto se procederá a la observación a través del microscopio de las raíces y se contarán cuántas de ellas presentaban micorrizas, siguiendo la metodología descrita por Giovannetti y Mosse (1980).



Imagen 7: Preparación de las muestras de raíces.

Las micorrizas se observaron bajo el microscopio (Leica DM 750) a 20X.

En las siguientes fotografías podemos observar como se ve a través del microscopio la presencia de micorrizas.



Imagen 8: Vesículas presentes en raíces de Maíz y de Melón a través del microscopio.

Una vez observados todos los tipos de suelos a través del microscopio podemos obtener el porcentaje de micorrización de cada uno de ellos.

4.6. Inoculación en plantas de melón.

4.6.1. Medición de los diferentes parámetros en plantas de Melón.

Para evaluar la capacidad de micorrización de cada una de las muestras que habían dado positivas, éstas se inocularon en plantas hortícolas de interés comercial. Para ello, se utilizaron semillas de melón, variedad “piel de sapo”. La inoculación se realizó en bandejas de alveolos en las que se empleó vermiculita esterilizada como sustrato y en las que en cada alveolo se dispusieron las semillas del melón junto con fragmentos de raíces de maíz (hasta aprox. 1g) que habían dado positivo en el proceso de micorrización.

Se sembraron 12 plantas por cada sustrato. Las plantas fueron colocadas en el invernadero y no fueron fertilizadas en ningún momento.



Imagen 9: Plantas germinadas de Melón en el invernadero.

Para la determinación de la micorrización en las plantas de melón, se realizó el mismo procedimiento que con el cultivo del maíz, a diferencia de que en este caso mediremos solo el peso seco de la parte aérea de las plantas ya que como analizaremos las plantas de forma individual los volúmenes de las raíces son apenas insignificantes.



Imagen 10: División de la parte aérea y la parte radical e las plantas de Melón.

4.6.2. Determinación de presencia y abundancia de endomicorrizas en plantas de Melón.

Para la determinación de la presencia de micorrizas emplearemos los mismos procedimientos que con el cultivo del maíz.

Resultados

5. Resultados.

5.1. Introducción.

En este estudio lo que se ha evaluado es la presencia de micorrizas arbusculares en dos zonas diferentes de la provincia de Almería en Sierra de Alhamilla (SA) y de la Zona Costera - Litoral (LIT).

5.2. Estudio de la presencia de micorrizas arbusculares en el cultivo del Maíz en diferentes zonas de la provincia de Almería.

En los siguientes apartados no se han realizados un análisis estadístico de las muestras porque dado el volumen de estas se midieron de forma conjunta.

5.2.1. Volumen medio de las raíces del Maíz.

En la siguiente tabla 3 podemos observar los volúmenes medios obtenidos en los diferentes tipos de suelos incluidos el testigo (*Glomus*) y el control.

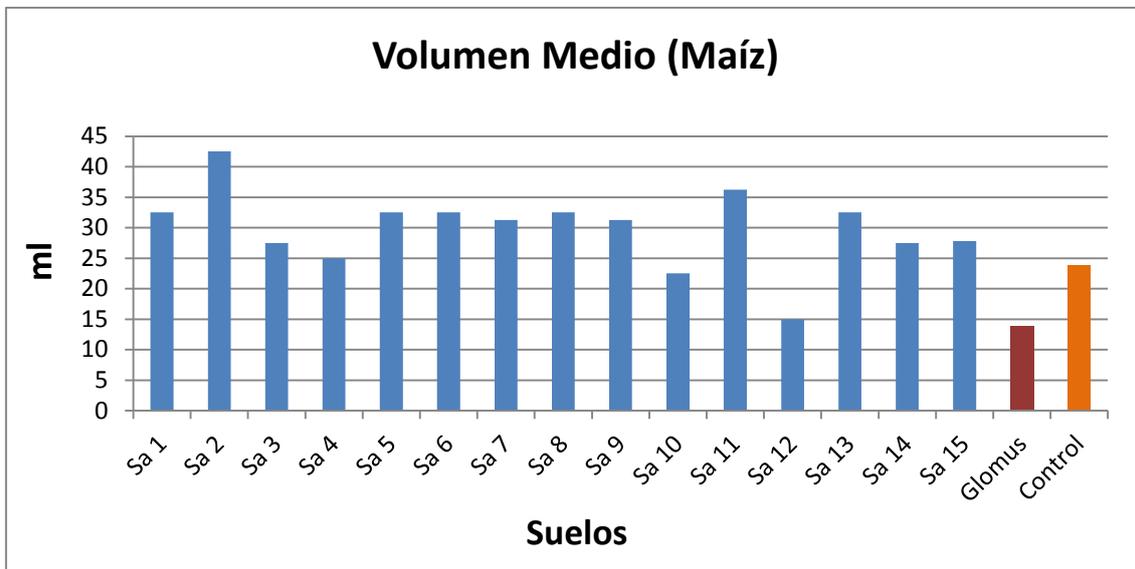
SUELO	VOLUMEN(ml)
Sa 1	32,5
Sa 2	42,5
Sa 3	27,5
Sa 4	25
Sa 5	32,5
Sa 6	32,5
Sa 7	31,25
Sa 8	32,5
Sa 9	31,25
Sa 10	22,5
Sa 11	36,25
Sa 12	15
Sa 13	32,5
Sa 14	27,5
Sa 15	27,8125
<i>Glomus</i>	13,75
Control	23,75

SUELO	VOLUMEN(ml)
LIT 1	2,5
LIT 3	30
LIT 4	33,75
LIT 5	41,25
LIT 6	26,25
LIT 7	27,5
LIT 8	33,75
LIT 9	46,25
LIT 10	22,5
<i>Glomus</i>	13,75
Control	23,75

Tabla 3: Volúmenes medios de los diferentes tipos de suelos Sa (Sierra Alhamilla y LIT (Costa-Litoral) en el cultivo del Maíz.

A continuación podemos observar gráficamente los resultados obtenidos de los volúmenes de los diferentes suelos (Gráfica 1).

5.2.1.1. Sierra de Alhamilla.

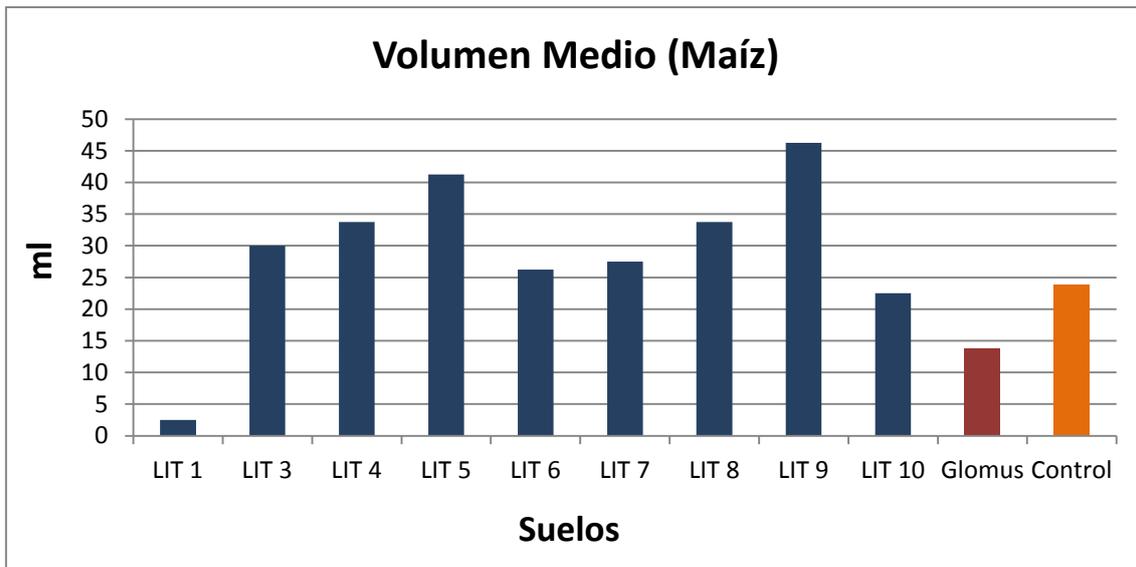


Gráfica 1: Volumen medio (mL) de las raíces del maíz en diferentes zonas de Sierra de Alhamilla. Se compara con un control y un testigo (*Glomus*).

Como podemos observar en la gráfica 1 en todos nuestros suelos el volumen medio de las plantas de maíz es ligeramente superior a nuestro control y bastante mayor que nuestro testigo (*Glomus*).

Unas de las principales características de la presencia de micorrizas es la mejora del enraizamiento de la planta y la mejor absorción de nutrientes. En este caso los datos están siendo favorables con respecto a *Glomus* destacando el suelo Sa2 y el Sa11 casi doblando los valores de nuestro testigo.

5.2.1.2. Zona Costera-Litoral.



Gráfica 2: Volumen medio de las raíces del maíz en (ml) en diferentes zonas de la Costa-Litoral. Se compara con un control y un testigo (*Glomus*).

En las muestras obtenidas correspondientes a la zona de Costa-Litoral (gráfica 2), a diferencia de los datos de LIT1 que han salido un valor muy bajo con respecto los otros suelos. Hay que destacar LIT9 y LIT5, con valores que superan los 40 ml a diferencia de *Glomus* que no ha obtenido un volumen medio mayor de 15 ml, triplicando así este valor LIT9.

5.2.2. Peso seco medio de la parte aérea del Maíz.

En la siguiente tabla 4 podemos observar los pesos secos medios obtenidos en los diferentes tipos de suelos incluidos el testigo (*Glomus*) y el control.

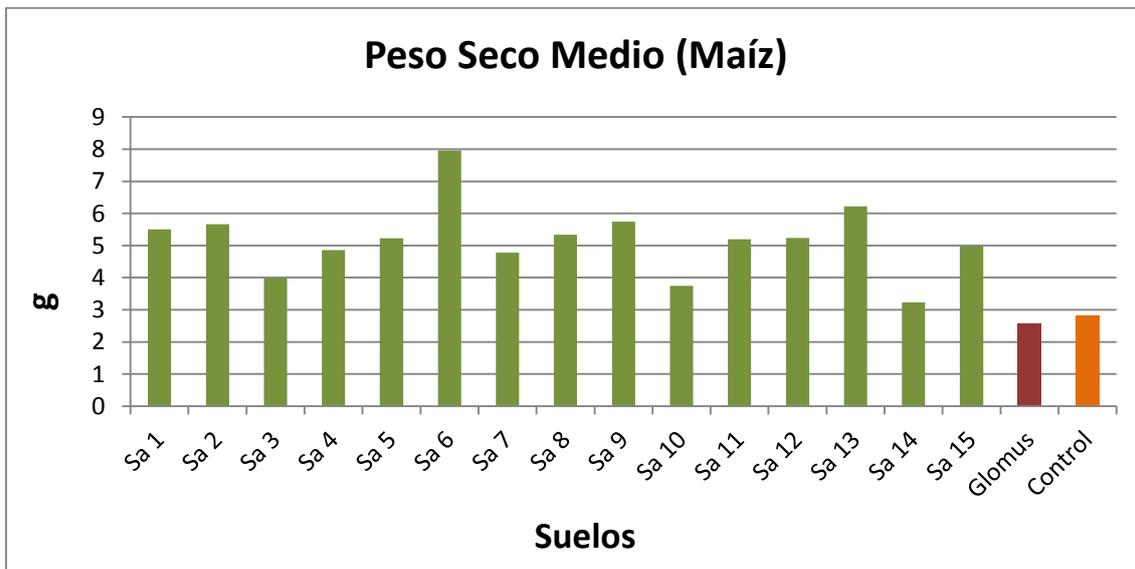
SUELO	PESO SECO (g)
Sa 1	5,50
Sa 2	5,67
Sa 3	3,98
Sa 4	4,86
Sa 5	5,23
Sa 6	7,96
Sa 7	4,78
Sa 8	5,34
Sa 9	5,74
Sa 10	3,74
Sa 11	5,20
Sa 12	5,24
Sa 13	6,22
Sa 14	3,23
Sa 15	4,97
<i>Glomus</i>	2,57
Control	2,82

SUELO	PESO SECO (g)
LIT 1	0,18
LIT 3	5,73
LIT 4	3,25
LIT 5	3,11
LIT 6	4,79
LIT 7	6,63
LIT 8	7,07
LIT 9	7,60
LIT 10	4,23
<i>Glomus</i>	2,57
Control	2,82

Tabla 4: Pesos secos medios de los diferentes tipos de suelos Sa (Sierra Alhamilla) y LIT (Costa-Litoral) en el cultivo del Maíz.

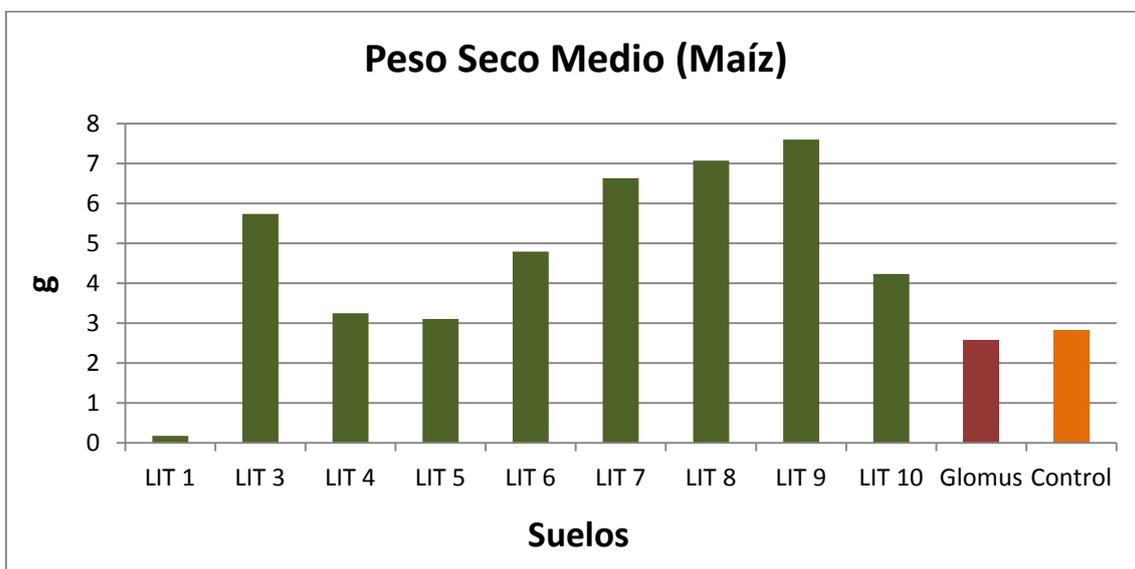
A continuación podemos observar gráficamente los resultados obtenidos de los pesos secos de los diferentes suelos.

5.2.2.1. Sierra de Alhamilla.



Gráfica 3: Peso seco medio de las partes aéreas del maíz en (gr) en diferentes zonas de Sierra de Alhamilla. Se compara con un control y un testigo (*Glomus*).

5.2.2.2. Zona Costera-Litoral.



Gráfica 4: Peso seco medio de las partes aéreas del maíz en (gr) en diferentes zonas de la Costa-Litoral. Se compara con un control y un testigo (*Glomus*).

En los pesos secos medios pasa lo mismo que en los volúmenes de los diferentes tipos de suelos.

5.2.3. Porcentaje micorrización.

En la siguiente tabla 5 podemos observar el tanto por ciento obtenidos en los diferentes tipos de suelos incluidos el testigo (*Glomus*) y el control.

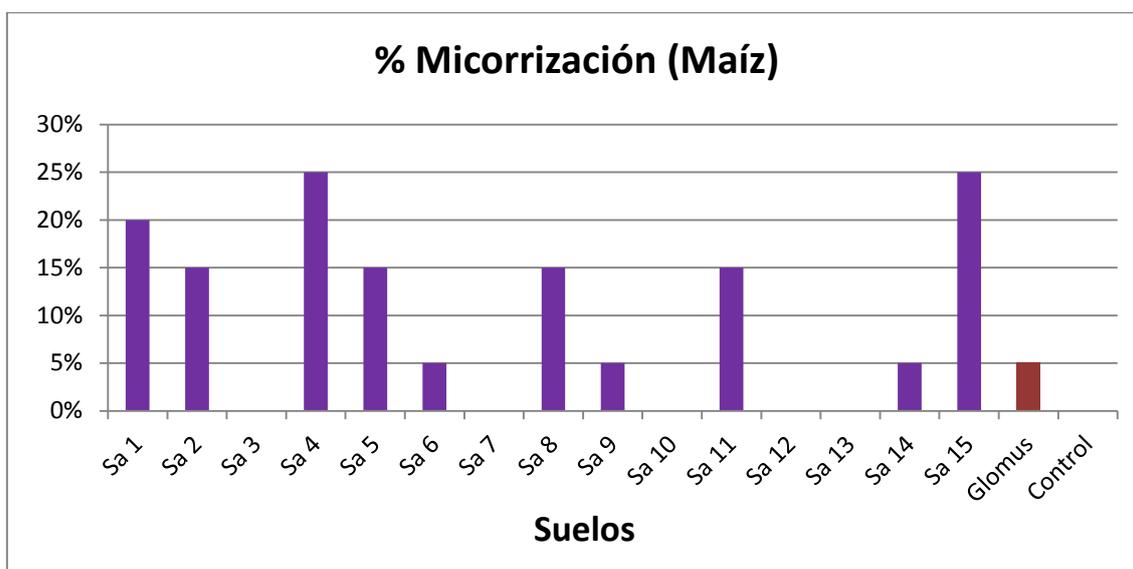
SUELO	% Micorrización
Sa 1	20%
Sa 2	15%
Sa 3	0%
Sa 4	25%
Sa 5	15%
Sa 6	5%
Sa 7	0%
Sa 8	15%
Sa 9	5%
Sa 10	0%
Sa 11	15%
Sa 12	0%
Sa 13	0%
Sa 14	5%
Sa 15	25%
<i>Glomus</i>	5%
Control	0%

SUELO	% Micorrización
LIT 1	60%
LIT 3	25%
LIT 4	5%
LIT 5	15%
LIT 6	20%
LIT 7	10%
LIT 8	35%
LIT 9	30%
LIT 10	25%
<i>Glomus</i>	5%
Control	0%

Tabla 5: % de micorrización de los diferentes tipos de suelos Sa (Sierra Alhamilla) y LIT (Costa-Litoral) en el cultivo del Maíz.

A continuación podemos observar gráficamente los resultados obtenidos del % de micorrización de los diferentes suelos.

5.2.3.1. Sierra de Alhamilla.

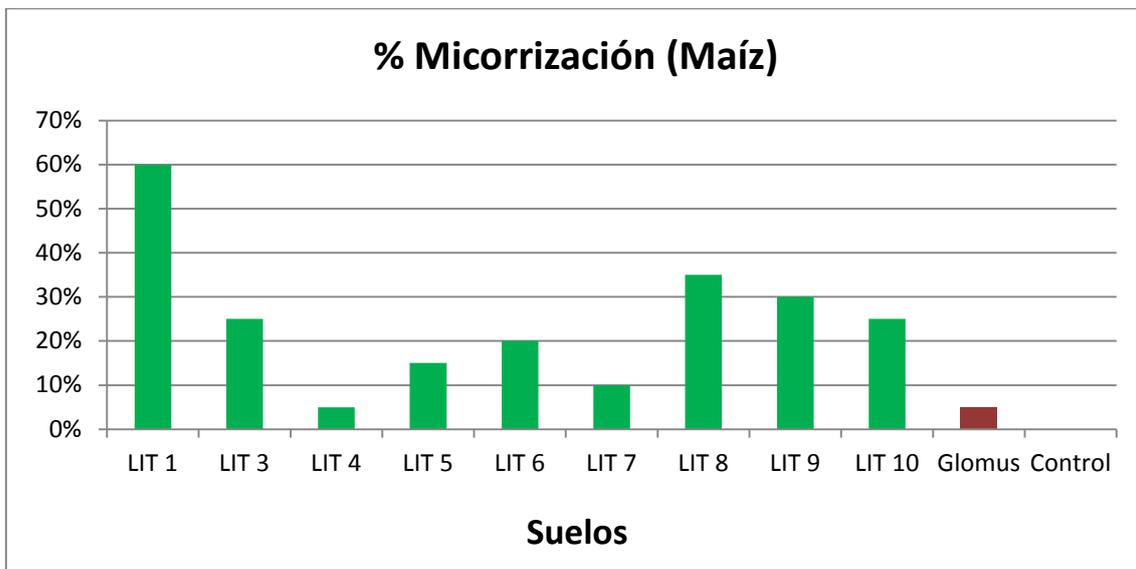


Gráfica 5: Tanto por ciento de Micorrización en maíz en diferentes zonas de Sierra de Alhamilla. Se compara con un control y un testigo (*Glomus*).

Como podemos observar en la gráfica 5 de los quince tipos de suelos que se han analizado se han obtenido micorrizas en diez de ellos, obteniendo así un alto porcentaje de micorrización.

Cabe destacar los suelos Sa4 y Sa15 con un 25% de micorrización. En este caso todos los suelos superan o igualan (Sa6, Sa9 Y Sa14) el porcentaje de micorrización del testigo *Glomus*.

5.2.3.2. Zona Costera-Litoral.



Gráfica 6: Tanto por ciento de Micorrización en maíz en diferentes zonas de la Costa-Litoral. Se compara con un control y un testigo (*Glomus*).

Hay que destacar en la gráfica 6 el valor de micorrización del suelo LIT1. Según los datos de las gráficas anteriores en este suelo tanto el volumen medio de la raíz como el peso seco de la parte aérea habían salido datos casi inexistentes, a diferencia del porcentaje de micorrización, teniendo este el mayor porcentaje alcanzando hasta un 60% de micorrización.

En este caso también los porcentajes de micorrización son más elevados que *Glomus* doblando o hasta triplicando el valor de este.

5.3. Estudio de la posible inducción de las micorrizas arbusculares obtenidas en el ensayo del Maíz en el cultivo del Melón.

5.3.1. Peso seco medio por planta de Melón una vez inducidas las micorrizas a través de las raíces que han dado positivo en el cultivo anterior en dos zonas de la provincia de Almería.

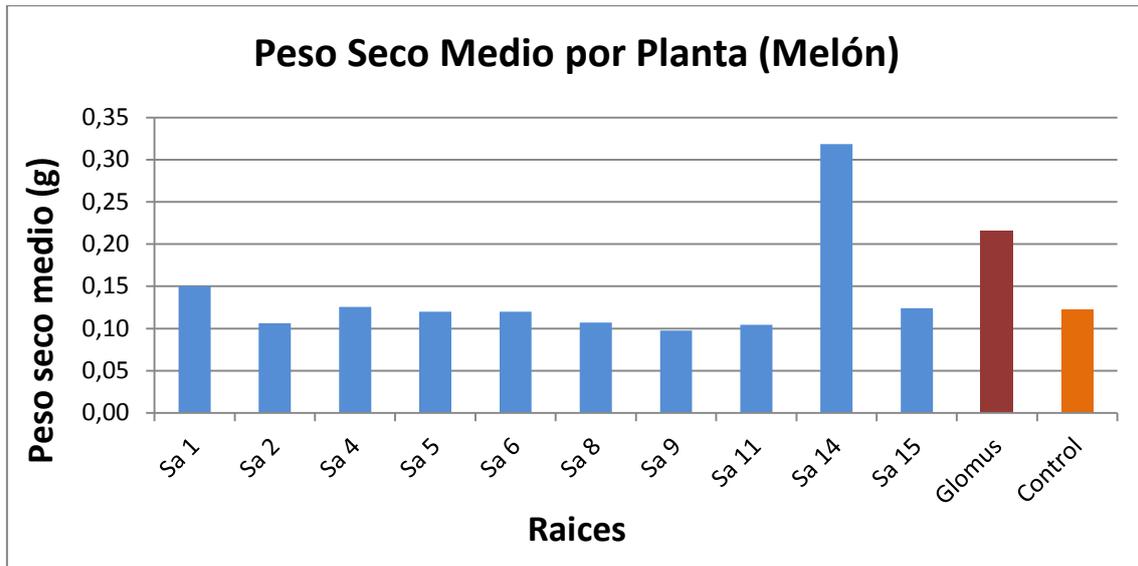
En la siguiente tabla 6 podemos observar los pesos secos medios obtenidos en los diferentes tipos de suelos incluidos el testigo (*Glomus*) y el control.

SUELO	PESO SECO (g)	SUELO	PESO SECO (g)
Sa 1	0,15	LIT 1	0,16
Sa 2	0,11	LIT 3	0,09
Sa 4	0,13	LIT 4	0,12
Sa 5	0,12	LIT 5	0,13
Sa 6	0,12	LIT 6	0,13
Sa 8	0,11	LIT 7	0,11
Sa 9	0,10	LIT 8	0,14
Sa 11	0,10	LIT 9	0,08
Sa 14	0,32	LIT 10	0,12
Sa 15	0,12	<i>Glomus</i>	0,22
<i>Glomus</i>	0,22	Control	0,12
Control	0,12		

Tabla 6: Pesos secos medios de los diferentes tipos de suelos Sa (Sierra Alhamilla) y LIT (Costa-Litoral) en el cultivo del Melón.

A continuación podemos observar gráficamente los resultados obtenidos de los pesos secos de los diferentes suelos en el cultivo de Melón.

5.3.1.1. Sierra de Alhamilla.

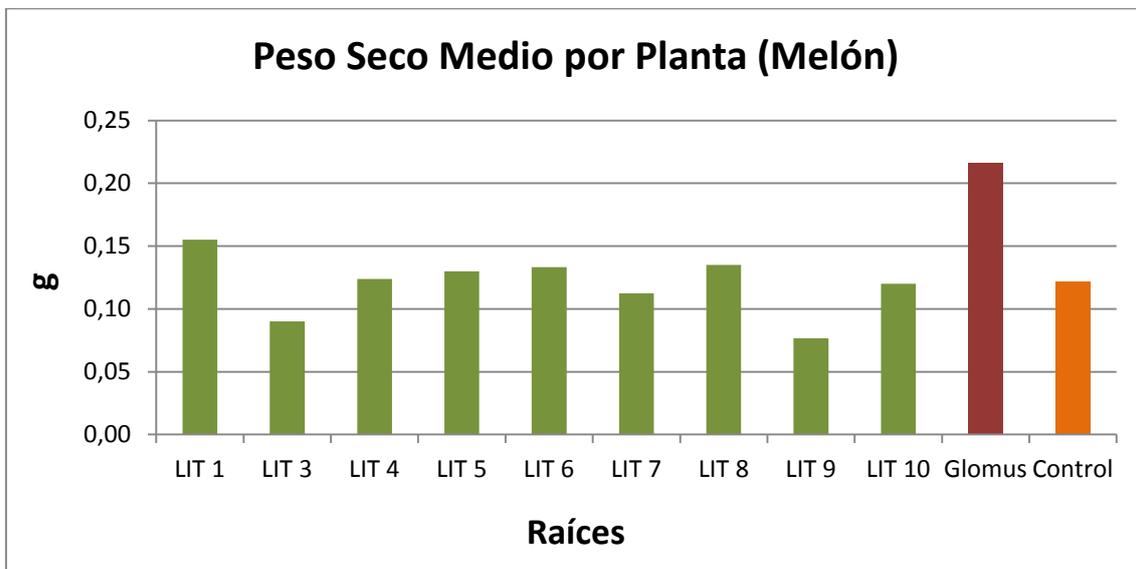


Gráfica 7: Peso seco medio (g) por planta de las partes aéreas del melón en diferentes zonas de Sierra de Alhamilla. Se compara con un control y un testigo (*Glomus*).

En la gráfica 7 podemos observar una homogeneidad entre los pesos secos por planta de las diferentes zonas del suelo.

A diferencia del cultivo del maíz *Glomus* tienes mayor peso seco por planta que en las diferentes zonas del suelo, menos en Sa14 que supera el valor de este.

5.3.1.2. Zona Costera-Litoral.



Gráfica 8: Peso seco medio (g) por planta de las partes aéreas del melón en diferentes zonas de la Costa-Litoral. Se compara con un control y un testigo (*Glomus*).

En este caso a diferencia de las demás gráficas el valor del testigo *Glomus* es superior al peso seco por planta de resto de las zonas de este suelo, siendo también superior en este caso el valor del control con respecto a los otros suelos menos en el caso de LIT1 que se ha obtenido un valor mayor que el del control aunque es menor que el del testigo *Glomus*.

5.3.2. Porcentaje micorrización en Melón.

En la siguiente tabla 7 podemos observar el porcentaje de micorrización obtenidos en los diferentes tipos de suelos incluidos el testigo (*Glomus*) y el control en el cultivo del melón.

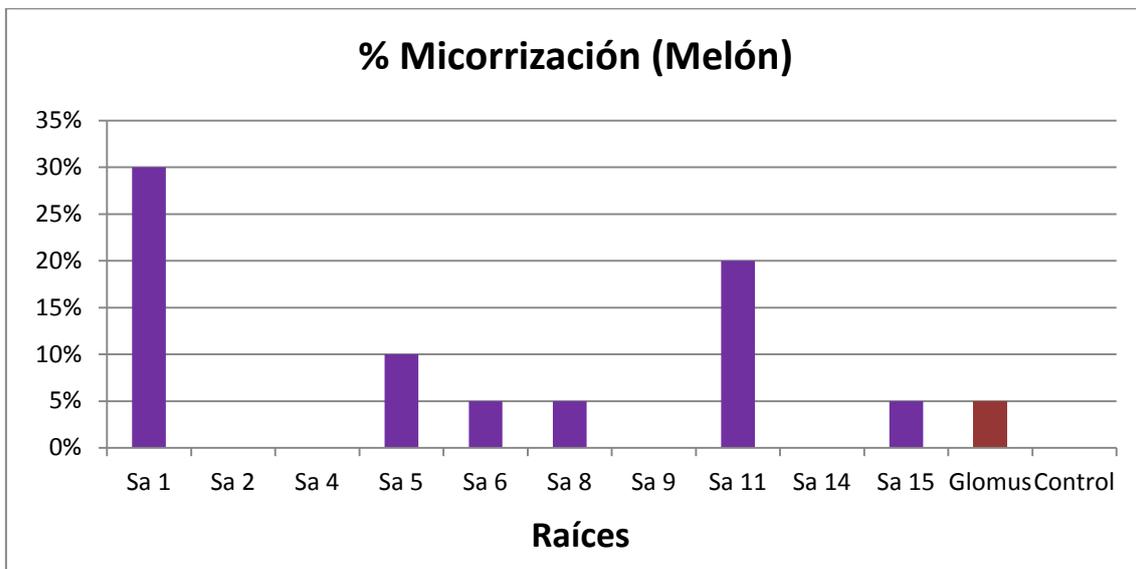
SUELO	%
Sa 1	30%
Sa 2	0%
Sa 4	0%
Sa 5	10%
Sa 6	5%
Sa 8	5%
Sa 9	0%
Sa 11	20%
Sa 14	0%
Sa 15	5%
<i>Glomus</i>	5%
Control	0%

SUELO	%
LIT 1	0%
LIT 3	0%
LIT 4	0%
LIT 5	35%
LIT 6	0%
LIT 7	5%
LIT 8	10%
LIT 9	5%
LIT 10	0%
<i>Glomus</i>	5%
Control	0%

Tabla 7: % de micorrización de los diferentes tipos de suelos Sa (Sierra Alhamilla) y LIT (Costa-Litoral) en el cultivo del Melón.

A continuación podemos observar gráficamente los resultados obtenidos del % de micorrización de los diferentes suelos.

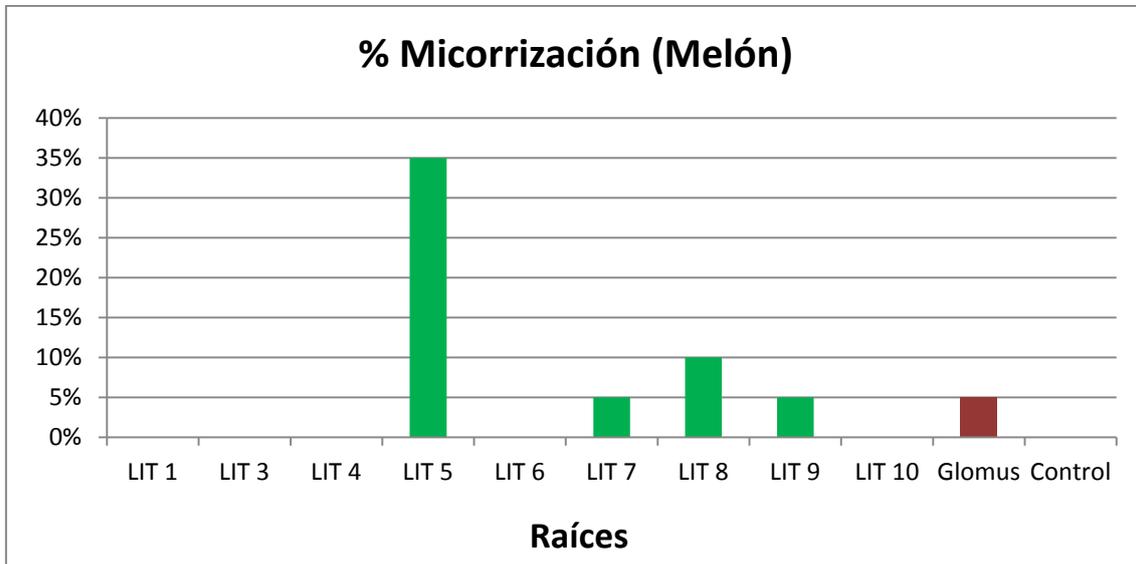
5.3.2.1. Sierra de Alhamilla.



Gráfica 9: Tanto por ciento de Micorrización en melón en diferentes zonas de Sierra de Alhamilla. Se compara con un control y un testigo (*Glomus*).

En la gráfica 9 podemos ver datos muy favorables porque de las diez zonas de un suelo se han inducido micorrizas en seis zonas del suelo. En este caso tres de ellos obtienen el mismo % de micorrización que el testigo *Glomus* un 5%, el resto han adquirido un 10% y un 20%, estacando el valor de micorrización a Sa1 con un valor de un 30%.

5.3.2.2. Zona Costera-Litoral.



Gráfica 10: Tanto por ciento de Micorrización en melón en diferentes zonas de la Costa-Litoral. Se compara con un control y un testigo (*Glomus*).

Aquí podemos ver que en nueve de los suelos de los cuales le hemos inducido micorrizas se han obtenido en cuatro de los nueve suelos, destacando el valor de LIT5 con un valor de un 35% de micorrización a diferencia con el testigo *Glomus* y el resto de zonas del suelo que han obtenido un 10% y un 5%, por lo que también los valores han sido favorables aunque no tanto como en el suelo anterior.

Discusión

6. Discusión.

En este proyecto hemos realizado dos ensayos que están relacionados el uno con el otro sobre las micorrizas arbusculares.

En bases a criterios morfológicos y fisiológicos, se ha descrito cinco tipos de micorrizas, agrupados en tres modalidades tróficas (SmithyRead, 2008): ectomicorrizas, ectendomicorrizas y endomicorriza.

a) Ectomicorrizas: se presentan en especies de plantas con interés forestal como Fagáceas, Betuláceas, Pináceas, entre otras familias, lo que supone el 3% de especies vegetales micorrizables. Se caracterizan principalmente porque las hifas del hongo limitan su desarrollo a los espacios intercelulares del córtex, sin penetrar la células vegetales de la raíz, dando lugar a una estructura característica denominada red de Hartig (Smith y Read, 2008). La superficie de la raíz queda rodeada por un entramado denso de hifas que constituyen el denominado "manto". Los hongos que forman este tipo de micorrizas pertenecen al *PhylumBasidiomycota*, aunque también algunos están clasificados en el *Ascomycota*.

b) Ectendomicorrizas: son las menos extendidas. Los hongos pertenecen al *PhylumBasidiomycotay* las plantas son fundamentalmente arbutoides o monotropales.

c) Endomicorrizas:son las más extendidas en la naturaleza, en cuanto a especies y comunidades de plantas que las forman, cuya característica principal es que sus hifas intraradicales penetran en el interior de las células del córtex y/o epidermis de la raíz. Otra característica es que no forman manto de hifas que cubren las raíces. Dentro de este grupo se distinguen tres subgrupos:

a. Ericoides: características de las plantas de la familia de las *Ericáceas* y los hongos pueden pertenecer a los *phylum Ascomycotao Basidiomycota*. Los hongos presentan una gran versatilidad en cuanto al uso de fuentes de N y P (origen orgánico o inorgánico). Esta característica fúngica confiere parte de la capacidad a las plantas para

crecer en suelos con un elevado contenido de materia orgánica (Pearson yRead, 1975; St-John *et al.*, 1985).

b.Orquidioides: son las que forman las plantas de la familia *Orquidiaceas* con hongos del *phylum Basidiomycota*. Como características morfológicas del hongo cabe resaltar que tras penetrar en las células de la raíz forman *ovillos* de hifas dentro de la célula hospedadora previa invaginación de la membrana plasmática, así como agregados poco organizados de hifas que liberan los nutrientes cuando degeneran (Smith, 1966).

c. Arbusculares: las micorrizas arbusculares (MA) constituyen el tipo de simbiosis más ampliamente representado en la naturaleza. Se estima que está presente en el 80% de las plantas, principalmente Angiospermas, así como en Gimnospermas, Briofitas y Pteridofitas. Los hongos que las forman son microscópicos, en contraste con los demás hongos formadores de micorrizas. La principal característica morfológica de estos hongos son los arbusculos, estructuras típicas de la colonización que el hongo desarrolla en el interior de las células de la corteza de la raíz por ramificación dicotómica repetida de sus hifas.

Como se indicó anteriormente, los hongos MA y las plantas han evolucionado en una estrecha relación desde hace más de 400 millones de años. Quizá sea esa evolución conjunta la causa de una de las características principales de este tipo de hongos, su carácter de biotrofos obligados. Esto condiciona que el hongo tenga la necesidad de encontrar y colonizar una raíz hospedadora para poder continuar su crecimiento y completar su ciclo de vida, que culmina con la formación de nuevos propágulos viables (Azcón-Aguilar *et al.*, 1991 y 1998; Bagoet *al.*, 2000).

El hongo MA coloniza la raíz sin causarle perjuicio y desarrolla una red de micelio externo a la raíz, que conecta la planta con los micro hábitats del suelo, y que es más eficaz que la propia raíz para extraer nutrientes y agua del mismo. Además, el desarrollo de la simbiosis induce cambios en la fisiología de la planta que la hacen más resistente a diferentes tipos de estreses ambientales (Smith yRead, 2008).

Las bases fundamentales sobre las que se establece la simbiosis MA son nutritivas. La planta cede al hongo compuestos carbonatados procedentes de la fotosíntesis, mientras que éste cede a la planta nutrientes minerales, especialmente aquellos menos asequibles para la misma, en virtud de la mayor accesibilidad del micelio externo del hongo a recursos del suelo más distantes de la capacidad de acceso del sistema radical (Barea *et al.*, 2008; Smith y Read, 2008; Ferrol y Pérez-Tienda, 2009). La actividad de las MA en la adquisición de nutrientes poco móviles es especial en el caso del fosfato, iones que se mueven muy lentamente por difusión en la solución del suelo hacia la superficie de la raíz. Sin embargo, cuando alcanzan la superficie de la raíz, ésta los capta muy rápidamente, por lo que se produce una zona de agotamiento en fosfato alrededor de la raíz. A la muy baja movilidad de los fosfatos se une la tendencia de estos iones a formar complejos insolubles asociándose a la mayoría de cationes del suelo o a ser absorbidos por los coloides del suelo (Barea *et al.*, 2007b). Las hifas fúngicas son energéticamente más rentables que las raíces por su menor grosor, a la vez que son más efectivas para alcanzar zonas de difícil acceso para las raíces por su mayor tamaño. Además de fósforo, se ha demostrado que los hongos MA tienen capacidad para absorber nitrógeno y otros nutrientes del suelo (Tobar *et al.*, 1994; Hodge *et al.*, 2001). Aparte de estos efectos nutricionales de las MA la planta recibe otros beneficios de la asociación.

Las MA realizan las importantes acciones en los sistemas suelo-planta:

- Mejoran el enraizamiento de las plantas.
- Incrementan el suministro de nutrientes a las plantas.
- Mejoran la estructura del suelo.
- Protegen a la planta frente a estreses bióticos y abióticos.
- Favorecen la diversidad de las comunidades de plantas y la sucesión vegetal.

Además de la relación obligada que establecen los hongos MA, con sus plantas hospedadoras, interactúan con otros macro- y microorganismos del suelo, siendo de gran relevancia ecológica las interacciones en la llamada micorrizosfera con bacterias relacionadas con el ciclo de nutrientes (P, N), fitoestimulación, control biológico de

patógenos o formación de agregados estables en el suelo (Johansson *et al.*, 2004; Barea *et al.*, 2005a y b).

- Primer ensayo:

En el primer ensayo hemos evaluado la presencia de micorrizas en dos zonas autóctonas de la provincia de Almería, una en Sierra de Alhamilla y la otra en la zona Costera-Litoral.

Para observar la presencia de micorrizas empleamos como planta trampa el maíz (*Zea mays*), comparándolo con un testigo comercial (*Glomus*) y un control.

Un estudio previo de diversidad de hongos MA basado en el análisis morfológico de las esporas encontradas en el mismo ecosistema analizado en el presente estudio mostro que las especies dominantes en este ambiente pertenecen al género *Glomus* (Barea *et al.*, 2007a).

Otros estudios, también basados en la morfología de las esporas, que se llevaron a cabo en ambientes semiáridos mediterráneos, concluyen que las especies del genero *Glomus* son las más abundantes en estas regiones (Dodd & Krikun, 1984; Requena *et al.*, 1996; Calvente *et al.*, 2004; Ferrol *et al.*, 2004).

Este dominio de las especies del genero *Glomus* en ambientes mediterráneos podría deberse al éxito evolutivo de este taxón, determinado por su alta capacidad de esporulación y la capacidad de colonizar las raíces de las plantas a partir de fragmentos de hifas (Oehl *et al.*, 2003).

Existen numerosos factores que afectan al desarrollo radical tales como: calidad y manejo de riego, control de nematodos y otras plagas, manejo de sales del suelo y del agua, condiciones físicas y químicas del suelo, dinámica de la temperatura del suelo, presencia de materia orgánica, uso complementario de guano, compost y cubiertas vegetales (Barceló, 1990; Ibacache, 1995 y Selles, 2000).

Hoy se acepta que la diversidad de hongos MA es uno de los factores más influyentes en el mantenimiento de la estabilidad y diversidad de la cubierta vegetal (van der Heijden *et al.*, 1998; Hart y Klironomos, 2002; Maherali y Hlironomos, 2007), así como en la recuperación de flora amenazada (Fuch y Haselwandter, 2008). Es por todo esto que las MA resultan de gran importancia en ecosistemas naturales. Actualmente se consideran claves en las estrategias destinadas a controlar la degradación de los ecosistemas puesto que juegan un papel crucial en las primeras etapas del establecimiento de las plantas, en especial en suelos afectados por procesos erosivos, incendios, laboreo excesivo, contaminación y sometidos a condiciones de estrés (sequía, salinidad, temperaturas elevadas, eficiencias nutricionales, etc). Este es el caso que ocurre de manera especial en la re vegetación con especies autóctonas de ambientes mediterráneos, tal como se recoge en la revisión de (Barea *et al.*, 2007a).

Por todo esto analizaremos los siguientes parámetros:

- Volumen Radicular.
- Peso seco de la parte aérea.

Primero analizaremos el volumen radicular, en este caso tanto en el suelo de Sierra Alhamilla (Sa) como en la zona Costera- Litoral (LIT) no existen diferencias significativas entre la obtención de las diferentes muestras de los diferentes suelos pero lo que si podemos destacar es que todos ellos han obtenido valores mayores con respecto a nuestro testigo (*Glomus*) menos en el caso de LIT1 que el valor de su volumen radicular fue menor que el valor del volumen radicular de *Glomus*.

Posteriormente analizamos el valor del los pesos secos de la parte aérea de las plantas, en este caso pasa lo mismo que con el volumen radicular, no existen diferencias significativas y en todos los casos se han obtenido valores mayores que el *Glomus* menos en el caso de LIT1 que ha obtenido un valor menor.

Una vez analizados los diferentes parámetros procederemos a analizar la presencia de micorriza en cada uno de los diferentes suelos.

La obtención y tinción de raicillas, seguida por la observación al microscopio permitió confirmar la presencia de estructuras fúngicas al interior de la corteza radical. Estas estructuras corresponden a micelio, esporas y vesículas características de hongos micorrízicos (Phillips y Hayman, 1970; Herrera Peraza *et al.*, 2004).

El éxito de la simbiosis depende de la especie de hongo micorrízico y sus características genéticas, y de la afinidad de éste con la especie vegetal e incluso la afinidad con el cultivar utilizado (Wang *et al.*, 2010).

- En el suelo de Sierra Alhambilla se ha obtenido un 66% de micorrización, es decir de las quince zonas del suelo a analizar en diez de ellas se han observado presencia de micorrizas obteniendo parámetros de micorrización entre un 5% y un 25%.

- En el suelo de la zona Costera-Litoral se ha obtenido un 90% de micorrización, es decir de las diez zonas del suelo a analizar en nueve de ellas se han observado presencia de micorrizas obteniendo parámetros de micorrización entre un 5% y un 60%.

En este caso cabe destacar la zona de LIT1, ya que a pesar de que en los parámetros analizados (volumen radicular y peso seco de la parte aérea) esta zona ha obtenido los menores valores de todas las zonas de los suelos a analizar casi obteniendo valores insignificantes ha obtenido el mayor porcentaje de micorrización de todos los suelos, llegando a obtener un 60% de micorrización.

Por lo que el porcentaje de micorrización en LIT es mucho mayor que en SA tanto en las diferentes zonas a analizar de los suelos como en el tanto por ciento de micorrización de dichas zonas.

Con estos valores podemos afirmar que no existe correlación entre el volumen radicular y el peso seco con el tanto por ciento de micorrización.

-Segundo ensayo:

En este ensayo procederemos con los datos que han dado positivo en la presencia de micorrizas en las diferentes zonas de los diferentes suelos a la inducción de dichas micorrizas en otro cultivo, en este caso emplearemos una variedad comercial de melón piel de sapo.

El parámetro a medir es el peso seco de la parte aérea, ya que en este caso analizaremos el parámetro de la planta de forma individual y no de forma conjunta como en el caso del maíz que se evaluaron los parámetros del maíz cultivado en una maceta donde habían cuatro plantas y no como en el melón que para la inducción lo sembramos en una bandeja de siembra de 150 alveolos.

Una vez crecidas las plantas procederemos a la extracción de las plantas de forma individual y analizar los pesos secos de la parte aérea.

A diferencia con el cultivo del maíz, en este caso tanto en el suelo Sa como en LIT los valores obtenidos son datos menores con respecto al testigo (*Glomus*), destacando el valor de Sa14 que sus pesos seco es mayor.

Ahora procederemos a la tinción de las raíces para poder observar a través del microscopio si se ha producido de forma satisfactoria la inducción de dichas micorrizas en los diferentes suelos.

La obtención y tinción de raicillas, seguida por la observación al microscopio permitió confirmar la presencia de estructuras fúngicas al interior de la corteza radical. Estas estructuras corresponden a micelio, esporas y vesículas características de hongos micorrízicos (Phillips y Hayman, 1970; Herrera Peraza *et al.* 2004).

El éxito de la simbiosis depende de la especie de hongo micorrízico y sus características genéticas, y de la afinidad de éste con la especie vegetal e incluso la afinidad con el cultivar utilizado (Wang *et al.* 2010).

En el suelo SA se ha obtenido un 60% de micorrización esto significa que de las diez zonas del suelo de Sa que dieron positivas en la presencia de micorrizas en seis de ellas se ha producido de forma satisfactoria la inducción de dichas micorrizas ya que una vez producida la tinción de las raíces y observadas a través del microscopio hemos podido ver dichas micorrizas en las raíces del cultivo del melón obteniendo unos valores entre un 5% y un 30% de micorrización en dichas raíces.

En el suelo LIT los valores obtenidos no han sido tan favorables como en el caso de SA ya que el porcentaje de micorrización es del 45%, esto quiere decir que de nueve zonas del suelo de LIT que dieron positivas en la presencia de micorrizas en solo cuatro de ellas se ha producido de forma satisfactoria la inducción de dichas micorrizas.

Al igual que en el suelo SA en el suelo LIT los valores de micorrización oscilan entre un 5% y un 35%.

En ambos suelos se han obtenido unos porcentajes mayores o iguales que nuestro testigo (*Glomus*).

Tenemos que destacar el Sa1 con un 30% de micorrización y LIT5 con un 35% de micorrización.

En este contexto, hay que recordar que, como es bien sabido (Barea *et al.*, 2007a), el máximo beneficio de la inoculación con hongos MA solo se consigue después de una selección muy controlada de los hongos más idóneos, representativos de la diversidad natural del ecosistema.

Conclusiones

7. Conclusiones.

- 1.** Tanto en los suelos de Sierra Alhamilla como en la Zona Costera-Litoral se ha detectado la presencia de hongos micorrícicos mediante el uso de plantas trampa (maíz) hasta un 25% en Sa4 y Sa 15 y un 60% de micorrización en LIT1.

- 2.** La micorrización de las plantas de maíz, permitió la micorrización de las plántulas de melón obteniendo una inducción de hasta un 30% en Sa1 y un 35% de micorrización en LIT5.

- 3.** No existió correlación entre el volumen radicular y peso seco de la parte aérea con la presencia o no de micorrizas así como con la cuantificación de las mismas.

Bibliografía

8. Bibliografía.

Allen MF. 1991. The Ecology of Mycorrhizae. Cambridge: University Press.

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.

Arriagada CA, Herrera MA, Ocampo JA. 2007. Beneficial effect of saprobe and arbuscular mycorrhizal fungi on growth of *Eucalyptus globulus* co-cultured with *Glycine max* in soil contaminated with heavy metals. *Journal of Environmental Management*84:93-99.

Auge RM. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*11,3-42.

Azcon-Aguilar, C., Garcia-Garcia, F. y Barea, J.M. 1991. Germinación y crecimiento axénico de los hongos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares. *In Fijación y movilización biológica de nutrientes. Nuevas tendencias*, Vol. 2, pp. 129-147. Eds. J. Olivares & J.M. Barea. Madrid: CSIC.

Azcon-Aguilar C, Jaizme-Vega MC, Calvet C. 2002. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to the control of soil-borne plant pathogens. In: Gianinazzi S, Schuepp H, Barea JM, Haselwandter K, eds. *Mycorrhizal technology in agriculture*. Birkhauser, Switzerland: 187-197.

Azcón-Aguila R, Concepción y Barea, José. 1997. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials. *Scientia Horticulturae*, 68:1-24.

Bago, B., Pfeffer, P.E. y Shachar-Hill, Y. 2000. Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. *Plant Physiology* 124(3), 949-957.

Bago, B. y Becard, G.2002. Bases of the obligate biotrophy of arbuscular mycorrhizal fungi .*Mycorrhizal Technol Agr Genes Bioproducts*, 33-48.

Bago B, Cano C. 2005. Breaking myths on arbuscular mycorrhizas in vitro biology. *In Vitro Culture of Mycorrhizas Vol 4. Soil Biology*, pp. 111-138.

Bago B, P.E. Pfeffer, Y. Schachar–Hill.2000. Carbon metabolism and transport in Arbuscular mycorrhizal. *Plant Physiology* 124: 949-58.

Barceló, J. 1990. Fisiología Vegetal. Ediciones Pirámide S.A., Madrid, España. 787.

Barea, J.M., Azeon, R. y Azeon-Aguilar, C.2005a.Interactions between mycorrhizal fungi and bacteria to improve plant nutrient cycling and soil structure. *Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions* 3, 195-212.

Barea, J.M., Escudero, J.L. y Azeon-Aguilar, C.1980. Effects of introduced and indigenous VA mycorrhizal fungi on nodulation, growth and nutrition of *Medicago sativa* in phosphate-fixing soils as affected by P fertilizers. *Plant and Soil* 54(2), 283-296.

Barea, J.M., Ferrol, N., Azeon-Aguilar, C. y Azeon, R. 2008. Mycorrhizal symbioses. In *The Ecophysiology of Plant-Phosphorus Interactions. Series: Plant Ecophysiology , Vol. 7* pp. 143-163. Eds. P.J. White & J.P. Hammond. Dordrecht: Springer.

Barea JM, Honrubia M. 1993.Micorrizas y revegetacion. *Ecosistemas*4,46-47.

Barea, J.M., Palenzuela, J., Cornejo, P., Sanchez-Castro, I., Navarro, C., Quinones,P.B., Azcon, R., Ferrol, N. y Azcon-Aguilar, C.2007a. Significado, diversidad e impacto de los hongos de las micorrizas arbusculares en ambientes mediterraneos.In *Biodiversi dad y Conservation de Fauna y Flora en Ambientes Mediterraneos*, pp. 155-185. Eds. J.M. Barea-Azcon, M. Moleon, R. Travesi, E. Ballesteros, J.M. Luzon & J.M. Tiemo. Granada,

Espana: Sociedad Granatense de Historia Natural.

Barea, J.M., Pozo, M.J., Azcon, R. y Azcon-Aguilar, C. 2005b. Microbial co-operation in the rhizosphere. *J Exp Bot* 56(417), 1761-1778.

Barea, J.M., Toro, M. y Azcon, R. 2007b. 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 *First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization. Series: Developments in Plant and Soil Sciences*, pp. 223- 227. Eds. E. Velazquez & C. Rodriguez-Barrueco. Dordrecht, The Netherlands: Springer.

Barea J. 1998. Biología de la rífosfera. Investigación y Ciencia (Scientific American) 256: 74-81.

Barea, José et al.,2005. Microbial co-operation in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, 56(417):1761–1778.

Barea JM, Azcon-Aguilar C. 2012. Evolution, Biology and Ecological Effects of arbuscular mycorrhizas. In: Gotsiridze-Columbus NS, ed. *Symbiosis: Evolution, Biology and Ecological Effects*. USA: Nova Publishers.

Barea JM, Pozo MJ, Lopez-Raez JM, Aroca R, Ruiz-Lozano JM, Ferrol N, Azeon R, Azeon-Aguilar C. 2012. Arbuscular Mycorrhizas and their significance in promoting soil-plant systems sustainability against environmental stresses In: Rodelas B, Gonzalez-Lopez J, eds. *Beneficial Plant-Microbial Interactions: Ecology and Applications* USA: Science Publishers, (In press).

Barea JM, Palenzuela J, Cornejo P, Sanchez I, Navarro C, Azeon R, Ferrol N, Azeon-Aguilar C, Barea-Azeon JM, Travesi R, Moleon M, Ballesteros E, Luzon JM, Tierno JM. 2006. Significado, diversidad e impacto de los hongos de las micorrizas arbusculares en ambientes mediterraneos. In: *Biodiversidad y Conservacion de Fauna y Flora en*

Ambientes Mediterraneos 2 Ed. Granada, España: Sociedad Granatense de Historia Natural, 155-185.

Becard G, Pfeffer PE. 1993. Status of nuclear division in arbuscular mycorrhizal fungi during in vitro development. *Protoplasma* 174:62-68.

Benabdellah K, Merlos MA, Azcon-Aguilar C, Ferrol N 2009. *GintGRX1*, the first characterized glomeromycotan glutaredoxin, is a multifunctional enzyme that responds to oxidative stress. *Fungal Genetics and Biology* 46: 94-103.

Berbee, M.L. y Taylor, J.W. 2001. Fungal molecular evolution: Gene trees and geologic time. *Mycota VII: Systematics and Evolution, PtB 7*, 229-245.

Blanca G, Morales C. 1991. Impactos sobre la flora y medidas de protección. In: *Flora del Parque Natural de la Sierra de Baza*. Universidad de Granada: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Granada 349-362.

Blanco F, Fabio y Salas, Eduardo. 1997. Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 21(1): 55-67.

Boomsma CR, Vyn TJ. 2008. Maize drought tolerance: Potential improvements through arbuscular mycorrhizal symbiosis? *Field Crops Research* 108,14-31.

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.**

Bucher M. 2007. Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces. *New Phytologist* 173, 11-26.

Brundrett, M.C. y Abbott, L.K. 2002. Arbuscular mycorrhizas in plant communities.

Microorganisms in Plant Conservation and Biodiversity, 151-193.

Brundrett M. 2004. Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biological Reviews* 79, 473-495.

Calvet C, V. Estaun, A. Camprubi.1992. Germination, early mycelial growth and infectivity of a vesicular– arbuscular mycorrhizal fungus in organic substrates. *Symbioses* 14: 405–411.

Carlile MJ, Watkinson SC, Gooday GW. 2001. *The Fungi*. 2nd.ed. Academic Press, San Diego.

Chaudhary VB, Lau MK, Johnson NC. 2008. Macroecology of microbes-biogeography of the Glomeromycota. In: Varma A, ed. *Mycorrhiza*. Berlin: 529-563.

Clapp JP, Rodriguez A, Dodd JC. 2001. Inter- and intra-isolate rRNA large subunit variation in *Glomus coronatum* spores. *New Phytologist* 149:539-554.

Clark R, Zobel R, Zeto S. 1999. Effects of mycorrhizal fungus isolates on mineral acquisition by *Panicum virgatum* in acidic soil. *Mycorrhiza* 9,167-176.

Colo Zzi Fil HO, Arnaldo y CA Rdozo Elke. 2000. Detecção de fungos micorrizicos arbusculares em raízes de cafeeiro e de crotolária cultivada na entrelinha. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35(10): 2033-2042.

Copetta A, Lingua G, Berta G. 2006. Effects of three AM fungi on growth, distribution of glandular hairs, and essential oil production in *Ocimum basilicum* L. var. *Genovese*. *Mycorrhiza* 16: 485-494.

Cordier C, Pozo MJ, Barea JM, Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V. 1998. Cell defense responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora parasitica* induced in tomato by an arbuscular mycorrhizal fungus. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 11: 1017- 1028.

Cornejo P, Rubio R, Castillo C, Azcon R, Borie F. 2008. Mycorrhizal effectiveness on wheat nutrient acquisition in an acidic soil from southern Chile as affected by nitrogen sources. *Journal of Plant Nutrition* 31,1555-1569.

Covacevich F, Echeverria HE, Aguirrezabal LAN. 2007. Soil available phosphorus status determines indigenous mycorrhizal colonization of field and glasshouse-grown spring wheat from Argentina. *Applied Soil Ecology* 35: 1-9.

De La Providencia IE, De Souza FA, Fernandez 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. **de Los Santos RT, Vierheilig H, Ocampo JA, Garcia-Garrido JM. 2011.** Altered pattern of Arbuscular mycorrhizal formation in tomato ethylene mutants. *Plant Signaling and Behavior* 6: 755-758.

Del Val C, Barea JM, Azcon-Aguilar C. 1999. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungus populations in heavy-metal-contaminated soils. *Applied and Environmental Microbiology* 65, 718-723.

DeMars BG, Boerner RE. 1995. Mycorrhizal status of *Deschampsia antarctica* in the Palmer Station area, Antarctica. *Mycologia* 87: 451-453.

Dumas-Gaudot E, Golotte A, Cordier C, Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V. 2000. Modulation of host defence systems. In: Kapulnik Y, Douds DD, Jr., eds. *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Functions*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 212-140.

Ellouze W, Hanson K, Nayyar A, Perez JC, Hamel C. 2008. Intertwined existence: the life of plant symbiotic fungi in agricultural soils. In: Varma A, ed. *Mycorrhiza*. Berlin: 507-528.

Eriksson ME, Israelsson M, Olsson O, Moritz T. 2000. Increased gibberellin biosynthesis in transgenic trees promotes growth, biomass production and xylem fiber length. *Nat Biotech* 18:784-788.

Evelin H, Kapoor R, Giri B. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: A review. *Annals of Botany* 104:1263-1280.

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.

Ezawa T, Smith SE, Smith FA. 2002. P metabolism and transport in AM fungi. *Plant and Soil* 244:221-230.

Ferrera-Cerrato R, A. Alarcón. 2008. Biotecnología de los hongos micorrízicos arbusculares. In: A. Díaz, N. Mayek (eds.), *Biofertilización como tecnología sostenible*. Plaza y Valdéz / CONACYT. pp. 25–38.

Ferrol N., Calvente, R., Cano, C., Barea, J.M. & Azeon-Aguilar, C. 2004. Analysing arbuscular mycorrhizal fungal diversity in shrub-associated resource islands from a desertification-threatened semiarid Mediterranean ecosystem. *Appl Soil Ecol* 25, 123-133.

Ferrol N, Perez-Tienda J. 2009. Coordinated nutrient exchange in arbuscular mycorrhiza. In: Azeon-Aguilar C, Barea, J.M., Gianinazzi, S., Gianinazzi-Pearson, V., eds. *Mycorrhizas: Functional Processes and Ecological Impact*. Heidelberg: Springer-Verlag,

73-87.

Fuchs, B. y Haselwandter, K. 2008. Arbuscular mycorrhiza of endangered plant species: potential impacts on restoration strategies. In *Mycorrhiza: State of the Art, Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics*. 3rdEd, pp. 565-579. Eds. A. Varma. Berlin, Heidelberg, Germany: Springer-Verlag.

Gadkar V, Rillig MC. 2006. The arbuscular mycorrhizal fungal protein glomalin is a putative homolog of heat shock protein 60. *FEMS Microbiology Letters* 263:93-101.

Gallardo A, Covelo F, Morillas L, Delgado M. 2009. Ciclos de nutrientes y procesos edáficos en los ecosistemas terrestres: especificidades del caso mediterráneo y sus implicaciones para las relaciones suelo-planta. *Ecosistemas* 184-19.

Gallaud J. 1905. Etude sur les mycorrhizes endotrophes. *Rev Gen Botany* 17:5-48.

Gallego-Giraldo L. 2008. Efecto de la sobreexpresión y del silenciamiento de genes del metabolismo de giberelinas sobre el desarrollo de tabaco.

George E. 2000. Nutrient uptake. In: Kapulnik Y y De, ed. *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function*. Kluwer, Dordrecht: 307-343.

Gerdemann JW, Trappe JM. 1974. The Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycologia Memoir* 5, 1-76.

Gianinazzi-Pearson V, Azeon-Aguilar C, Becard G, Bonfante P, Ferrol N, Franken P, Gollote A, Harrier L, Lanfranco L, van Tuinen D. 2004. Structural and functional genomics of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi. In: Tkacz JS, Lange L, eds. *Advances in fungal biotechnology for industry, medicine and agriculture*. New York, Boston: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 405-424.

Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S. 1978. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular- arbuscular mycorrhiza II. Soluble alkaline phosphatase specific to mycorrhizal infection in onion roots. *Physiological Plant Pathology*12:45-53.

Giovannetti M, Fortuna P, Citernes AS, Morini S, Nuti MP. 2001. The occurrence of anastomosis formation and nuclear exchange in intact arbuscular mycorrhizal networks. *New Phytologist*151:717-724.

Golotte A, Brechenmacher L, Weidmann S, Franken P, Gianinazzi-Pearson V. 2002. Plant genes involved in arbuscular mycorrhiza formation and functioning. In: Gianinazzi S, Schiepp H, Barea JM, Haselwandter K, eds. *Mycorrhiza Technology in Agriculture, from Genes to Bioproducts*. Basel, Switzerland: Birkhauser Verlag, 87-102.

Golotte A, L'Haridon F, Chatagnier O, Wettstein G, Arnould C, Van Tuinen A, Gianinazzi-Pearson V. 2006. Repetitive DNA sequences include retrotransposons in genomes of the Glomeromycota. *Genetica*128:455-469.

Gonzalez-Guerrero M, Benabdellah K, Ferrol N, Azeon-Aguilar C. 2009. Mechanisms underlying heavy metal tolerance in arbuscular mycorrhizas. In: Azcon-Aguilar C, Barea JM, Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V, eds. *Mycorrhizas Functional Processes and Ecological Impact*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 107-122.

Govindarajulu M, Pfeffer PE, Jin H, 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.

Harley JL, Smith SE. 1983. Mycorrhizal Symbiosis. New York: Academic Press.

Harrison MJ, Van Buuren ML. 1995. A phosphate transporter from the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme*. *Nature*378:626-629.

Harrison MJ. 2005. Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Annual Review of*

Microbiology 59, 19-42.

Hart, M.M. y Klironomos, J.N. 2002. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and ecosystem functioning. *Mycorrhizal Ecology* 157, 225-242.

Heckman, D.S., Geiser, D.M., Eidell, B.R., Stauffer, R.L., Kardos, N.L. y Hedges, S.B. 2001. Molecular evidence for the early colonization of land by fungi and plants. *Science* 293(5532), 1129-1133.

Helgason, T. y Fitter, A. 2005. The ecology and evolution of the arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycologist* 19(3), 96-101.

Herrera, M.A., Salamanca, C.P. y Barea, J.M. 1993. Inoculation of woody legumes with selected arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia to recover desertified mediterranean ecosystems. *Appl Environ Microbiol* 59(1), 129-133.

Hijri M, Sanders IR. 2004. The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is haploid and has a small genome size in the lower limit of eukaryotes. *Fungal Genetics and Biology* 41: 253-261.

Hildebrandt U, Regvar M, Bothe H. 2007. Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance. *Phytochemistry* 68: 139-146.

Hodge A, Campbell CD, Fitter AH. 2001. An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. *Nature* 413:297-299.

Holford ICR. 1997. Soil phosphorus: its measurement, and its uptake by plants. *Soil Research* 35: 227-240.

Hooker JE, Jaizme-Vega M, Atkinson D. 1994. Biocontrol of plant pathogens using arbuscular mycorrhizal fungi. In: Gianinazzi S, Schiepp, H, eds. *Impact of Arbuscular*

Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems: Birkhauser-Verlag, Basel, Switzerland, 191-200.

Hosny M, Gianinazzi-Pearson V, Dullieu H. 1998. Nuclear DNA content of 11 fungal species in *Glomales*. *Genome* 41:422-428.

Ibacache, A. 1995. Periodos de crecimiento de raíces en vid. *Rev. Frutícola*, Vol.16. 1:23-26.

Jakobsen I. 2004. Hyphal fusion to plant species connections - Giant mycelia and community nutrient flow. *New Phytologist* 164:4-7.

Janerete C.A. 1991. An introduction to mycorrhizal. *The American Biology Teacher* 53: 13-19.

Jeffries P, Barea JM. 2001. Arbuscular mycorrhiza- A key component of sustainable plant-soil ecosystems. In: Hock B, ed. *The Mycota, Vol. IX: Fungal associations*. Berlin: 95-113.

Jeffries P, Barea JM. 2012. Arbuscular Mycorrhiza - a key component of sustainable plant-soil ecosystems. In: Hock B, ed. *The Mycota, vol IX. Fungal Associations, 2nd edition*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 95-113.

Johansson, J.F., Paul, L.R. y Finlay, R.D. 2004. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiol Ecol* 48(1), 1-13.

Kabir Z. 2005. Tillage or no-tillage: Impact on mycorrhizae. *Canadian Journal of Plant Science* 85: 23-29.

Kaldorf M, Schmelzer E, Bothe H. 1998. Expression of maize and fungal nitrate

reductase genes in arbuscular mycorrhiza. *Molecular Plant-Microbe Interactions*11:439-44.

Khaosaad T, Garcia-Garrido JM, Steinkellner S, Vierheilig H. 2007. Take-all disease is systemically reduced in roots of mycorrhizal barley plants. *Soil Biology and Biochemistry*39:727-734.

Kruger, M., Stockinger, H., Kruger, C. y Schussler, A. 2009. DNA-based species level detection of Glomeromycota: one PCR primer set for all arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol* 183(1), 212-223.

Kruger M, Kruger C, Walker C, Stockinger H, Schupier A. 2012. Phylogenetic reference data for systematics and phylotaxonomy of arbuscular mycorrhizal fungi from phylum to species level. *New Phytologist*193:970-984.

Lanfranco L, Delpero M, Bonfante P. 1999. Intrasporal variability of ribosomal sequences in the endomycorrhizal fungus *Gigaspora margarita*. *Molecular Ecology*8:37-45.

Larose G, Chenevert R, Moutoglis P, Gagne S, Piche Y, Vierheilig H. 2002. Flavonoid levels in roots of *Medicago sativa* are modulated by the developmental stage of the symbiosis and the root colonizing arbuscular mycorrhizal fungus. *Journal of Plant Physiology*159: 1329-1339.

Lopez-Bermudez F, Albaladejo J. 1990. Factores ambientales de la degradación del suelo en el área mediterránea. In: Albaladejo J, Stocking, M.A., Diaz, E., eds. *Degradation and rehabilitation of soil in mediterranean environmental conditions*. Murcia, Spain: CSIC, 15-45.

Lopez-Gonzalez GA. 2001. Los árboles y arbustos de la península ibérica y balears (especies silvestres y las principales cultivadas). España: Edic. Mundi-Prensa.

Maherali, H. y Klironomos, J.N.2007.Influence of Phylogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning. *Science* 316(5832), 1746-1748.

Malty JDS, Siqueira JO, Souza Moreira FM. 2006. Effects of glyphosate on soybean symbiotic microorganisms, in culture media and in greenhouse. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*41:285-291.

Marti E, Gisbert C, Bishop GJ, Dixon MS, Garcia-Martinez JL. 2006. Genetic and physiological characterization of tomato cv. Micro-Tom. *Journal of Experimental Botany* 57: 2037-2047.

Martínez L. B. y F. I. Pugnaire.2009. Interacciones entre las comunidades de hongos formadores de micorrizas arbusculares y de plantas. Algunos ejemplos en los ecosistemas semiáridos. *Ecosistemas* 18 (2): 44-54.

Miller RM, Jastrow JD. 2000. Mycorrhizal fungi influence soil structure. In: Kapulnik Y, Douds DD, eds. *Arbuscular mycorrhizae: molecular biology and physiology*. Kluwer, Dordrecht: 3-18.

Mohammadi-Goltapeh E, Rezaee-Danesh Y, Prasad R, Varma A. 2008. Mycorrhizal fungi: what we know and what should we know? In: Varma A, ed. *Mycorrhiza*. Berlin: 3-28.

Montalvo J. 1992. Interpretación ecológica de la erosión y desertificación. *Ecosistemas* 3, 17.

Morton J.B, G.L. Benny.1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): A new order, Glomales, Two new suborders, Glominae and Gigasporinae and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with and amendment of Glomaceae. *Micotaxon* 37: 471-491.

Newsham KK, Upson R, Read DJ. 2009. Mycorrhizas and dark septate root endophytes in polar regions. *Fungal Ecology*2:10-20.

OEHL, Fritz et al.2003. Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of Central Europe. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(5): 2816-2824.

Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Mader, P., Boiler, T. y Wiemken, A. 2003. Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of Central Europe. *Appl Environ Microbiol*69(5), 2816-2824.

Oehl F, Da Silva GA, Goto BT, Sieverding E. 2011a. Glomeromycota: Three new genera and glomoid species reorganized. *Mycotaxon*116:75-120.

Oliveira RS, Vosatka M, Dodd JC, Castro PML. 2005. Studies on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and the efficacy of two native isolates in a highly alkaline anthropogenic sediment. *Mycorrhiza*16,23-31.

Pearson, V. y Read, D.J. 1975. Physiology of mycorrhizal endophyte of *Calluna vulgaris*. *Trans Brit Mycol Soc* 64(FEB), 1-7.

Phillips, J.M. yHayman, D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans BritMycol'Soc* 55, 158-161.

Pietikainen A, Kytoviita MM. 2007. Defoliation changes mycorrhizal benefit and competitive interactions between seedlings and adult plants. *Journal of Ecology* 95: 639-647.

Pirozynski, K.A. yMalloch, D.W. 1975. Origin of land plants - matter of mycotropism. *Biosystems* 6(3), 153-164.

Porcel R, Ruiz-Lozano JM. 2004. Arbuscular mycorrhizal influence on leaf water potential, solute accumulation, and oxidative stress in soybean plants subjected to drought stress. *Journal Experimental Botany*55:1743-1750.

Pozo MJ, Cordier C, Dumas-Gaudot E, Gianinazzi S, Barea JM, Azcon-Aguilar C.2002. Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defence responses to Phytophthora infection in tomato plants. *Journal of Experimental Botany*53, 525-534.

Pozo MJ, Azcon-Aguilar C. 2007. Unraveling mycorrhiza-induced resistance. *Current Opinion in Plant Biology*10:393-398.

Pozo MJ, Verhage A, Garcia-Andrade J, Garcia JM, Azcon-Aguilar C. 2009. Priming plant defence against pathogens by arbuscular mycorrhizal fungi. In: Azcon-Aguilar C, Barea JM, Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V, eds. *Mycorrhizas Functional Processes and Ecological Impact*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 123-135.

Purin S, Morton J. 2011. In situ analysis of anastomosis in representative genera of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*21:505-514.

Rambelli A. 1973. The Rhizosphere of mycorrhizae. In: Marks GL, Kolowski TT, eds. *Ectomycorrhizae*. New York: 299-343.

Rasmussen N, Lloyd DC, Ratcliffe RG, Hansen PE, Jakobsen I. 2000. ³¹P NMR for the study of P metabolism and translocation in arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*226:245-253.

Redecker, D., Morton, J.B. y Bruns, T.D. 2000. Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales). *Mol Phylogenet Evol* 14(2), 276-284.

Remy, W., Taylor, T.N., Hass, H. y Kerp, H. 1994. Four hundred-million-year-old

vesicular-arbuscular mycorrhizae. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America *91*(25), 11841-11843.

Regvar M, Vogel-Mikus K, . 2008. Arbuscular Mycorrhiza in Metal hyperaccumulating plants. In: Varma A, cd. *Mycorrhiza*. Berlin: 261-280.

Requena N, Perez-Solis E, Azcon-Aguilar C, Jeffries P, Barea JM. 2001. Management of indigenous plant-microbe symbioses aids restoration of desertified ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology* *67*, 495-498.

Rillig MC. 2004. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. *Canadian Journal of Soil Science* *84*, 355-363.

Rillig MC, Wright SF, Nichols KA, Schmidt WF, Torn MS. 2001. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. *Plant and Soil* *233*:167- 177.

Rillig MC, Steinberg PD. 2002. Glomalin production by an arbuscular mycorrhizal fungus: A mechanism of habitat modification? *Soil Biology and Biochemistry* *34*:1371-1374.

Rivas-Martinez S. 1981. Les etages bioclimatiques de la vegetation de la Peninsule Iberique. *Anales del JardIn Botdnico de Madrid*. *37*, 251-268.

Ruiz-Lozano JM, Aroca R. 2010. Host response to osmotic stresses: stomatal behaviour and water use efficiency of arbuscular mycorrhizal plants. In: KoltaiH, Kapulnik Y, eds. *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function, 2nd Ed.* Dordrecht, The Netherlands: Springer Science, Business Media B.V., 239-256.

Saito M, Marumoto T. 2002. Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi: The status quo in Japan and the future prospects. *Plant and Soil* *244*:273-279.

Salzer P, Corbiere H, Boiler T. 1999. Hydrogen peroxide accumulation in *Medicago truncatula* roots colonized by the arbuscular mycorrhiza-forming fungus *Glomus intraradices*. *Planta* 208: 319-325.

Sanchez-Castro I, Ferrol N, Barea JM. 2012. Analyzing the community composition of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing the roots of representative shrubland species in a Mediterranean ecosystems *Journal of Arid Environments*80,1-9.

Schiipier A, Schwarzott D, Walker C. 2001. A new fungal phylum, the *Glomeromycota*, phylogeny and evolution. *Mycological Research*105,1413- 1421.

Sellés, G., Ahumada, R. 2000. Manejo de Suelos y Riego en Parronales. Informe Interno. INIA.

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.

Shekoofeh E, Sepideh H, Roya R. 2012. Role of mycorrhizal fungi and salicylic acid in salinity tolerance of *Ocimum basilicum* resistance to salinity. *African Journal of Biotechnology*11:2223- 2235.

Sheng PP, Li M, Liu RJ.2011. Effects of agricultural practices on community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural ecosystem: A review. *Chinese Journal of Applied Ecology* 22: 1639-1645.

Sieve Rding Ewald. 1986.El papel de las micorrizas en la agricultura. Suelos Ecuatoriales, 16(1) 52-59.

Sieve Rding, Ewald.1991.Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Eschborn, Germany: GT Z, 371.

Simon, L., Bousquet, J., Levesque, R.C. y Lalonde, M. 1993. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature* 363(6424), 67-69.

Singh R, Adholeya A, Mukerji KG. 2000. Mycorrhiza in control of soil-borne pathogens. In: Mukerji KG, Chamola BP, Singh J, eds. *Mycorrhizal biology*. Kluwer, New York: 173-196.

Smith, S.E. 1966. Physiology and ecology of orchid mycorrhizal fungi with reference to seedling nutrition. *New Phytol* 65(4), 488-&.

Smith S.E. y D.J. Read.1997. Mycorrhizal symbiosis. 2nd ed. Academic Press. Cambridge, Great Britain.

Smith SE, Read DJ. 1997. Mycorrhizal symbiosis, 2nd ed. London, UK: Academic Press.

Smith, S.E. y Read, D.J. 2008. *Mycorrhizal symbiosis, 3rd ed.* New York: Elsevier, Academic Press.

Smith SE, Read DJ. 2008. *Mycorrhizal symbiosis, 3rd ed.* New York. *Smith SE, Smith FA. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: New paradigms from cellular to ecosystem scales.* 62, 227-250. 2011. Ref Type: Serial (Book, Monograph)

Solaiman M, Saito M. 1997. Use of sugars by intraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi revealed by radiorespirometry. *New Phytologist* 136:533-538.

St-Arnaud M, Vujanovic V. 2007. Effect of the arbuscular mycorrhizal symbiosis on plant diseases and pests. In: Mamel C, Plenchette C, eds. *Mycorrhizae in crop production: applying knowledge*. Haworth, Binghampton, New York.

St- John, B.J., Smith, S.E., Nicholas, D.J.D. y Smith, F.A. 1985. Enzymes of ammonium

assimilation in the mycorrhizal fungus *Pezizella-ericae* Read. *New Phytol* 100(4), 579-584.

Tehler, A., Farris, J.S., Lipscomb, D.L. y Kallersjo, M. 2000. Phylogenetic analyses of the fungi based on large rDNA data sets. *Mycologia* 92, 459-474.

Tehler, A., Little, D.P. y Farris, J.S. 2003. The full-length phylogenetic tree from 1551 ribosomal sequences of chitinous fungi, Fungi. *MycolRes* 107, 901-916.

Thompson JD, Lavergne S, Affre L, Gaudeul M, Debussche M. 2005. Ecological differentiation of Mediterranean endemic plants. *Taxon* 54, 967-976.

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, Azcon-Aguilar C, Becard G, Bonfante P, Harrison MJ, Kuster 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.

Tobar, R., Azcon, R. y Barea, J.M. 1994. Improved nitrogen uptake and transport from ¹⁵N-labeled nitrate by external hyphae of arbuscular mycorrhiza under water-stressed conditions. *New Phytol* 126(1), 119-122.

Trouvelot S, van Tuinen D, Hijri M, Gianinazzi-Pearson V. 1999. Visualization of ribosomal DNA loci in spore interphasic nuclei of *glomalean* fungi by fluorescence in situ hybridization. *Mycorrhiza* 8: 203-206.

Valentine AJ, Osborne BA, Mitchell DT. 2001. Interactions between phosphorus supply and total nutrient availability on mycorrhizal colonization, growth and photosynthesis of cucumber. *Scientia Horticulturae* 88: 177-189.

Van Der Heijden, Marcel.1998. Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. *Ecology*, 79(6): 2082-2091.

Van der Heijden MGA, Klironomos JN, Ursic M, Moutoglis P, Streitwolf-Engel R, Boiler T, Wiemken A, Sanders IR. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396, 69-72.

Vierheilig H, Piche Y. 2002. Signalling in arbuscular mycorrhiza: Facts and hypotheses. *Flavonoids in Cell Function* 505, 23-39.

Vierheilig H, Steinkellner S, Khaosaad T, Garcia-Garrido JM. 2008. The biocontrol effect of mycorrhization on soilborne fungal pathogens and the autoregulation of the AM symbiosis: one mechanism, two effects? In: Varma A, ed. *Mycorrhiza*. Berlin: 307-320.

Von Alten H, Lindemann A, Schonbeck F. 1993. Stimulation of vesicular-arbuscular mycorrhiza by fungicides or rhizosphere bacteria. *Mycorrhiza* 2:167-173.

Vos C, Geerinckx K, Mkandawire R, Panis B, de Waele D, Elsen A. 2012. Arbuscular mycorrhizal fungi affect both penetration and further life stage development of root-knot nematodes in tomato. *Mycorrhiza* 22:157-163.

Wan MT, Rahe JE. 1998. Impact of azadirachtin on *Glomus intraradices* and vesicular-arbuscular mycorrhiza in root inducing transferred DNA transformed roots of *Daucus carota*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 17:2041-2050.

Wang XQ, Ullah H, Jones AM, Assmann SM. 2001. G Protein Regulation of Ion Channels and Abscisic Acid Signaling in *Arabidopsis* Guard Cells. *Science*292:2070-2072.

Wheeler JH, Kostbade JT. 1990. World Regional Geography: Saunders College Publishing.

Wulfsohn D, Nyengaard JR. 1999. Simple stereological procedure to estimate the number and dimensions of root hairs. *Plant and Soil*209:129-136.

Wright SF, Upadhyaya A. 1998. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* **198**, 97-107.

Wright DP, Scholes JD, Read DJ. 1998. Effects of VA mycorrhizal colonization on photosynthesis and biomass production of *Trifolium repens* L. *Plant, Cell & Environment* 21: 209-216.

Wright SF, Green VS, Cavigelli MA. 2007. Glomalin in aggregate size classes from three different farming systems. *Soil and Tillage Research*94:546-549.

Wu PH, Huang DD, Chang DCN. 2011. Mycorrhizal symbiosis enhances Phalaenopsis orchid's growth and resistance to *Erwinia chrysanthemi*. *African Journal of Biotechnology*10: 10095- 10100.

Xavier LJC, Boyetchko SM. 2004. Arbuscular mycorrhizal fungi in plant disease control. In: Arora DK, ed. *Fungal biotechnology in agricultural, food, and environmental applications*. Dekker, New York: 183-194.

Yaalon DH. 1997. Soils in the Mediterranean region: What makes them different? *Catena*28, 157-169.

Yuan, X.L., Xiao, S.H. y Taylor, T.N. 2005.Lichen-like symbiosis 600 million years ago.
Science 308(5724), 1017-1020.