

IDENTIFICACIÓN DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EN SISTEMAS AGROFORESTALES CON CACAO EN EL TRÓPICO HÚMEDO ECUATORIANO¹

Oscar Oswaldo Prieto-Benavides², Carlos Eulogio Belezaca-Pinargote², Washington Fernando Mora-Silva², Felipe Rafael Garcés-Fiallos², Freddy Agustín Sabando-Ávila², Pedro Emilio Cedeño-Loja²

RESUMEN

Identificación de hongos micorrízicos arbusculares en sistemas agroforestales con cacao en el trópico húmedo ecuatoriano. El objetivo de este trabajo fue aislar e identificar hongos formadores de micorriza arbuscular asociados a sistemas agroforestales con cacao (*Theobroma cacao* L.). Se muestrearon cinco sistemas ubicados en fincas de la zona central del trópico húmedo ecuatoriano, en la provincia de Los Ríos, en los cantones Quevedo y Valencia: fincas La Represa, La Propiedad, La Unión, Fátima y Mi Recuerdo. Las muestras de suelo y raíces se recolectaron en la época seca entre los meses de junio y diciembre del 2009. Los géneros de hongos micorrízicos arbusculares encontrados fueron los siguientes: *Gigaspora*, *Acaulospora*, *Glomus* y *Scutellospora*. En todos los sitios muestreados el género con mayor representatividad en cantidad de esporas encontradas por gramo de suelo fue *Glomus*, mientras que para *Gigaspora* hubo la menor cantidad de esporas. También se evaluó el porcentaje de colonización micorrízica existente en *T. cacao* donde el mayor porcentaje de densidad de colonización se encontró en las muestras recolectadas de las fincas Mi Recuerdo y La Unión, y el menor porcentaje en la finca La Propiedad.

Palabras claves: *Theobroma cacao* L., agroforestería, micorrizas arbusculares.

ABSTRACT

Identification of arbuscular mycorrhizal fungi in cocoa agroforestry systems in the Ecuadorian humid tropics. The objective of this study was to determine the fungal species forming arbuscular mycorrhizal (AM) inhabiting in traditional agroforestry systems with cacao (*Theobroma cacao* L.). Five agroecosystems located in farms from the humid tropics in Ecuadorian central region were sampled, particularly the farms 'La Represa', 'La Propiedad', 'La Union', 'Fatima' and 'Mi Recuerdo' located in Quevedo and Valencia cantons of Los Rios province. Soil and root samples were collected during the dry season between June and December of 2009. The fungi genera found were: *Gigaspora*, *Acaulospora*, *Glomus* and *Scutellospora*. In all sites sampled, *Glomus* was the most representative genus in terms of amount of spores found per gram of soil, while *Gigaspora* was the genus of which fewer spores were found. The percentage of existing level of mycorrhizal colonization in *T. cacao* was also assessed, with the highest percentage found in samples collected from farms 'Mi Recuerdo' and 'La Union', whilst the lowest percentage was found in the roots of *T. cacao* collected from 'La Propiedad' farm.

Key words: *Theobroma cacao* L., agroforestry, arbuscular mycorrhiza.



¹ Recibido: 13 de enero, 2012. Aceptado: 9 octubre, 2012. Parte de la tesis de Ingeniería Forestal del primer autor.

² Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo, Los Ríos, Ecuador. oscarprieto@hotmail.com; cbelezaca@hotmail.com; wmorasilva@yahoo.es; felipegarces23@yahoo.com; freddysabando@hotmail.com; emilioloja@hotmail.com, respectivamente.

INTRODUCCIÓN

En la agricultura, el uso de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) tiene un gran potencial biotecnológico debido a que facilitan la disponibilidad de nutrientes para las plantas. Por lo tanto, plantas micorrizadas poseen una ventaja importante con respecto a las no micorrizadas (Klironomos 2003).

En el marco de una agricultura sostenible, la utilización de hongos formadores de micorrizas arbusculares debe ser considerada en el diseño de cualquier sistema de producción agrícola, pues además de ser estos microsimbiontes, componentes inseparables de los agroecosistemas, realizan diversas funciones en su asociación con las plantas, pues pueden constituir sustitutos biológicos de los fertilizantes minerales (Thompson 1991). Entonces el uso de estos hongos, permite que se incremente la adaptación y que la fertilización sea más eficiente, es por ello que en el caso de los cultivos se podría ahorrar cantidades importantes de fertilizantes minerales e igualmente lograr una absorción de los nutrientes disponibles en el suelo.

Aparentemente, las especies de HMA no tienen especificidad en la elección de sus hospederos (Smith y Read 1997). 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 (Azcón y Barea 1997) y consecuentemente, hay un aumento en la diversidad y productividad de las plantas en un ecosistema determinado (Van der Heijden 1998).

En Ecuador, la degradación y contaminación de los suelos, la aclimatación, adaptación y multiplicación de los cultivos en diversas condiciones agroecológicas, son las mayores limitantes para la producción sostenible y eficiente. Es aquí, donde los microorganismos tienen un gran potencial para contribuir a la solución de múltiples problemas de la agricultura, dentro de los cuales, los biofertilizantes con base en micorrizas son una alternativa para reducir pérdidas en los procesos de multiplicación, mejorar la aclimatación y nutrición de especies vegetales de importancia ecológica, ambiental y económica (Azcón y Barea 1997).

Considerando que los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) colonizan aproximadamente el 90% de las plantas vasculares (Coyne 2000) y que en los sistemas agroforestales (SAF) existe una organización heterogénea, traducido en un gran número de especies vegetales conviviendo en un mismo espacio de suelo,

la posibilidad de encontrar asociaciones exitosas con diversas especies de HMA es alta. Es importante conocer que estos HMA están conservados en los SAF tradicionales, que por décadas han sido mantenidos por los agricultores, con bajos niveles de disturbio. No obstante, es importante conocer el potencial que poseen para ser utilizados en la agricultura, forestación, reforestación, conservarlos en bancos de germoplasma *ex situ* o emplearlos en futuros trabajos de investigación, antes que sigan desapareciendo.

Con los antecedentes antes expuestos en esta investigación, se planteó como objetivo aislar e identificar hongos formadores de micorriza arbuscular asociados a sistemas agroforestales con cacao (*Theobroma cacao* L.).

MATERIALES Y MÉTODOS

Las investigaciones a nivel de campo se realizaron en sistemas agroforestales con cacao (*T. cacao*) de tipo nacional (SAF-C), ubicados en fincas de la zona central del trópico húmedo ecuatoriano, específicamente en los cantones Quevedo y Valencia, de la Provincia de Los Ríos, Ecuador. Se consideraron SAF-C que han sido conservados con escaso disturbio del suelo y sin aplicación de pesticidas químicos. Los análisis de suelo y raíces se realizaron en el Laboratorio de Microbiología Ambiental y Vegetal de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ).

Se recolectaron muestras de suelo y raíces en cinco SAF-C, de cada sistema se recolectaron tres submuestras en puntos establecidos al azar, luego se forma una muestra homogénea de suelo y raíces, cada submuestra se extrajo a una profundidad de 0 a 20 cm, compuesta aproximadamente por 2 kg de suelo y 80 g de raíces de cacao. Para el aislamiento y conteo de esporas de HMA se utilizó el método de tamizado (tamices de 425, 90 y 25 μm) y decantación en húmedo con centrifugación, similar a la metodología propuesta por Gerderman y Nicholson (1963) con ciertas modificaciones, la cual consistió en pesar 100 g de suelo y se colocó en un vaso de precipitación, al que se le añadió 1000 ml de agua destilada y agitó durante 5 min, la suspensión se dejó reposar durante 2 min y se pasó a través de tamices con apertura de mallas de 425, 90 y 25 μm para separar las esporas de acuerdo a su tamaño, la agitación y decantación se repitió tres veces.

El material que quedó atrapado en los diferentes tamices, se recogió con cuidado y se vertió en vasos de

precipitación de 100 ml con 50 ml de agua destilada. En tubos de centrifuga de 15 ml se colocaron 5 ml de solución de sacarosa al 20%. Luego se agregaron 5 ml al 60%, pero esta última solución se vertió en el fondo de la anterior para formar una gradiente de sacarosa.

Por último, se agregaron 5 ml de la solución del suelo obtenido de los tamices, de manera que la solución quedara por debajo del suelo suspendido en agua. Se sellaron los tubos con parafilm y se colocaron en la centrifuga durante 3 min 3000 rpm, una vez cumplido el tiempo de centrifugación, el contenido de los tubos se vertió en un tamiz de 25 μm y se lavó con agua destilada para eliminar la sacarosa. El contenido del tamiz se recogió en envases de vidrio y posteriormente se agregó poco a poco en cajas Petri cuadrículadas de aproximadamente 1,25 cm entre líneas, para hacer el conteo de esporas.

La identificación de los HMA a nivel de género se efectuó con la ayuda de claves taxonómicas (Brundrett *et al.* 1996, Peterson *et al.* 2004, Powell y Bagyaraj 2000, INVAM sf). El porcentaje de colonización micorrízica existente en cacao se evaluó mediante el método de despigmentación y tinción de raíz propuesta por Phillips y Hayman (1970) y Giovannetti y Mosse (1980).

Para evaluar el número de esporas de HMA por gramo de suelo húmedo (gsh^{-1}) se realizó un análisis descriptivo, mientras que para evaluar el porcentaje de colonización micorrízica en los cinco SAF-C muestreados, se consideraron los segmentos colonizados y los no colonizados. Se obtuvo la relación del total de segmentos colonizados con respecto a los totales evaluados, además, se contabilizó con base a colonización total por arbuscúlos y/o por vesículas.

Los datos obtenidos se analizaron utilizando los procedimientos ANOVA de SAS® versión 9.0 para Windows (SAS/STAT® 2002). El diseño utilizado fue completamente al azar (DCA). Las diferencias estadísticas entre los promedios de los tratamientos fueron determinados mediante la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Asociaciones vegetales en sistemas agroforestales tradicionales con *Theobroma cacao* L.

En las diferentes asociaciones vegetales que poseen los sistemas agroforestales tradicionales con cacao de tipo nacional (SAF-C) muestreados, se puede

observar que el SAF-C de la finca “La Unión” mostró mayor cantidad de especies vegetales asociadas al cacao, en donde se encuentran árboles maderables como *Cibystax donnell smithii* (guayacán blanco) y *Cordia alliodora* (laurel), especies frutales como *Citrus* spp. (naranja, toronja, limón) y especies rastreras como *Laportea aestuans* (ortiga) que conforman el sotobosque (Cuadro 1). En cambio, en los SAF-C ubicados en las fincas “La Propiedad” y “Mi Recuerdo” hubo un número similar de especies vegetales interactuando en cada sistema, aunque distintas, mientras que en el SAF-C de las fincas “La Represa” y “Fátima” se encontró tres: *T. cacao* (cacao), *Citrus sinensis* (naranja) y *Cordia alliodora* (laurel). En este contexto Silva (1997) menciona que los sistemas agroforestales en el litoral ecuatoriano se remontan a épocas pasadas, es decir, estos sistemas son modelos de producción muy antiguos, por lo que en la actualidad se encuentran cultivos perennes tales como el cacao y café, asociados con especies forestales. Con este antecedente, en la provincia de Los Ríos, Ecuador, las especies más importantes asociadas a estos cultivos son: *Cordia alliodora* (laurel), *Triplaris cumingiana* (fernán sánchez), *Schizolobium parahybum* (pachaco), *Albizia guachapele* (guachapelí), *Chlorophora tinctoria* (moral fino), entre otros. Las asociaciones vegetales encontradas en los SAF muestreados, concuerdan también con las reportadas en Venezuela por Jaimez (1997), quien investigando el aporte de macronutrientes en SAF con cacao y especies frutales, encontró asociaciones vegetales de cacao con *Persea americana* (aguacate) y *Matisia cordata* (zapote).

Población de esporas y colonización micorrízica en sistemas agroforestales tradicionales con *Theobroma cacao* L. tipo nacional (SAF-C)

Población de esporas de hongos formadores de micorriza arbuscular (MA)

El SAF-C que presentó mayor concentración de esporas de hongos MA por cada 100 gramos de suelo húmedo, fue el ubicado en la finca “La Propiedad” con un total de 2028 esporas, seguido de los SAF-C localizados en las fincas “La Represa” y “Fátima” con 1751 y 1712 esporas, respectivamente. Por otro lado, las menores poblaciones de esporas se encontraron en los SAF-C de la finca “Mi Recuerdo” con 1583 y en el de la finca “La Unión” con 1030, constituyéndose

Cuadro 1. Asociaciones vegetales de cinco sistemas agroforestales tradicionales con *Theobroma cacao* L. tipo nacional (SAF-C), ubicados en la zona central del trópico húmedo ecuatoriano. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Los Ríos, Ecuador. 2010.

Variables	La Represa	La Propiedad	La Unión	Fátima	Mi recuerdo
Asociaciones vegetales	<i>Theobroma cacao</i> L. (cacao), <i>Persea americana</i> Mill. (aguacate), <i>Inga</i> spp. (guaba), <i>Cibystax donnell Smithii</i> (guayacán blanco), <i>Coffea arabica</i> L. (café), <i>Musa</i> sp. (plátano), <i>Inga manabiensis</i> (guaba de mico)	<i>Theobroma cacao</i> L. (cacao), <i>Cordia alliodora</i> (laurel), <i>Cibystax donnell Smithii</i> (guayacán blanco), <i>Inga</i> spp. (guaba), <i>Citrus paradisi</i> (toronja), <i>Matisia cordata</i> (zapote), <i>Musa</i> spp. (plátano y banano), <i>Laportea aestuans</i> (ortiga), <i>Philodendron axycardium</i> (camachillo), <i>Heliconia</i> sp. (platanillo), <i>Geophila</i> sp. (urejilla)	<i>Theobroma cacao</i> L. (cacao), <i>Persea americana</i> Mill. (aguacate), <i>Inga</i> spp. (guabas), <i>Cibystax donnell Smithii</i> (guayacán blanco), <i>Coffea arabica</i> L. (café), <i>Musa</i> sp. (plátano), <i>Triplaris cumingiana</i> (fernandesche), <i>Cordia alliodora</i> (laurel), <i>Citrus</i> spp. (naranja, toronja y limón), <i>Cedrella odorata</i> (cedro), <i>Mangifera indica</i> (mango), <i>Laportea aestuans</i> (ortiga), <i>Philodendron axycardium</i> (camachillo)	<i>Theobroma cacao</i> L. (cacao), <i>Citrus sinensis</i> (naranja), <i>Cordia alliodora</i> (laurel)	<i>Theobroma cacao</i> L. (cacao), <i>Cordia alliodora</i> (laurel), <i>Inga</i> spp. (guaba), <i>Citrus</i> spp. (toronja y naranja), <i>Musa</i> spp. (plátano y banano), <i>Chlorophora tinctoria</i> (moral fino), <i>Coffea arabica</i> L. (café), <i>Schizolobium parahybum</i> (pachaco), <i>Mammea americana</i> (mamey), <i>Carica papaya</i> L. (papaya), <i>Bactris</i> sp. (chontilla)

en el SAF-C con la población de esporas de hongos MA más baja (Cuadro 2). La densidad fúngica de MA encontrada en los SAF-C, tiene concordancia con lo encontrado por Bolaños *et al.* (2000), quienes identificaron micorrizas arbusculares en suelos de la zona cafetera colombiana, y encontraron un

promedio de 2500 esporas por cada 100 g de suelo. De igual manera coincide con los resultados obtenidos por Cardona *et al.* (2005), quienes investigaron la abundancia de actinomicetos y micorrizas arbusculares en paisajes fragmentados de la amazonía colombiana, hallaron promedios de 1509 esporas por cada 100 g de

Cuadro 2. Población total de esporas de hongos MA por cada 100 gramos de suelo húmedo, en cinco sistemas agroforestales tradicionales con cacao (*Theobroma cacao* L.) tipo nacional (SAF-C) en la zona central del trópico húmedo ecuatoriano. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Los Ríos, Ecuador. 2010.

Apertura de Tamiz	La Represa	La Propiedad	La Unión	Fátima	Mi recuerdo
425 μ m	71	125	79	84	112
90 μ m	420	625	396	318	405
25 μ m	1260	1278	833	1310	1066
Total	1751	2028	1030	1712	1583

suelo. Por otro lado, León (2006) evaluó y caracterizó micorrizas arbusculares asociadas a yuca (*Manihot sculenta*) y encontró resultados más altos con relación a los SAF-C, con un promedio de 8710 esporas por cada 100 g de suelo. Esto muestra que el número de estas puede estar influenciado directamente por los factores bióticos y abióticos que interactúan en un ecosistema determinado, especialmente en los sistemas agroforestales.

Géneros de hongos micorrízicos arbusculares (MA) encontrados por sitio y apertura de tamiz

La mayor cantidad de esporas se atrapó en el tamiz de 25 μm , seguido de los tamices de 90 μm y 425 μm , respectivamente, donde la mayor parte de esporas de hongos formadores de MA pertenecieron a los géneros *Glomus* spp., seguido de *Scutellospora* spp., *Acaulospora* spp. y *Gigaspora* spp. En el tamiz de 25 μm no se encontraron esporas del género *Gigaspora*, esta fue la tendencia en todos los sistemas agroforestales muestreados (Cuadro 3). La diversidad de géneros de hongos formadores de MA encontrados en los SAF-C muestreados en esta investigación, son similares a los encontrados por Castillo (2005) en SAF, en Chile. En este estudio se encontró otros géneros, como *Archaeospora*, *Entrophospora* y *Pacispora*. Esto puede deberse a las diferencias tanto climatológicas, así como a los diferentes tipos de suelo muestreados en las investigaciones. Por otra parte, los géneros encontrados por la autora antes mencionada, posiblemente pueden ser nativos de ese lugar, por lo tanto, no se encontraron en nuestros sistemas agroforestales. Sin embargo, se encontró similitud de algunos de sus resultados con los obtenidos en la presente investigación, tal es el caso de la mayor presencia del género *Glomus* con relación a los otros, en todos los SAF-C muestreados. Con base en la cantidad de esporas encontradas en los diferentes tamices, estos resultados se muestran similares a los obtenidos por Posada *et al.* (2005) quienes al evaluar micorrizas arbusculares en paisajes de Loma y Vega, Colombia, y utilizando tamices 500, 120 y 45 μm , la mayoría de las esporas que encontraron fueron en el tamiz de 45 μm , el de mayor apertura de malla.

Porcentaje de colonización micorrízica en raíces de cacao (*T. cacao*) tipo nacional en cinco sistemas agroforestales tradicionales (SAF-C)

Según los valores de densidad de colonización visual obtenidos en raíces de cacao en cinco SAF-C (Figura 1), se encontraron diferencias estadísticas significativas entre estos, donde los SAF-C ubicados en las fincas “La Unión” y “Mi Recuerdo” mostraron una mayor densidad de colonización visual con aproximadamente 3,50%, siendo las más altas frente a los SAF-C de las fincas “Fátima” con el 2,10%, “La Represa” con 1,6% y “La Propiedad” con el 0,9%, siendo este último el que presentó el menor porcentaje de colonización micorrízica. Al tratar de obtener inóculos de hongos micorrízicos nativos en *T. cacao* (cacao) y *Glycine max.* (soya), y considerando las dos épocas climáticas (seco y lluvioso) como tratamientos, se obtuvieron resultados superiores a los expuestos en este trabajo (Morales y Durango 2008). Se encontró que en la época húmeda la frecuencia de micorrización fue superior al 50% y en época seca del 45%, lo que hace pensar que las condiciones climáticas

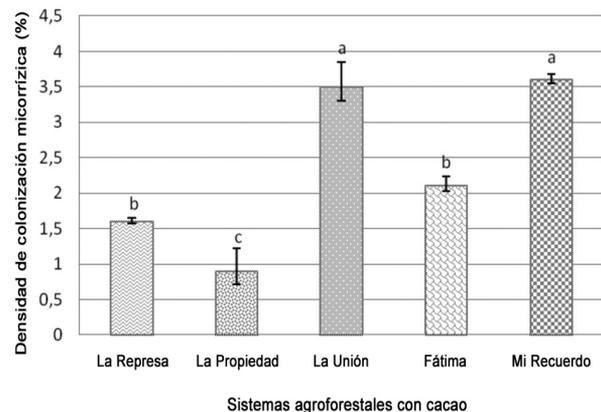


Figura 1. Porcentaje de densidad de colonización micorrízica en raíces de *Theobroma cacao* L. (cacao) tipo nacional en cinco sistemas agroforestales tradicionales (SAF-C), ubicados en la zona central del trópico húmedo ecuatoriano. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Los Ríos, Ecuador. 2010.

Cuadro 3. Géneros y cantidad de esporas de hongos formadores de micorriza arbuscular obtenidos por cada 100 gramos de suelo húmedo en tamices con apertura de mallas de 425, 90 y 25 μm , en cinco sistemas agroforestales tradicionales con cacao (*Theobroma cacao* L.) (SAF-C), ubicados en la zona central del trópico húmedo ecuatoriano. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Los Ríos, Ecuador. 2010.

Género	La Represa				La Propiedad				La Unión			
	425 μm	90 μm	25 μm	Total	425 μm	90 μm	25 μm	Total	425 μm	90 μm	25 μm	Total
<i>Acaulospora</i>	40	217	31	288	58	220	56	334	27	42	2	71
<i>Gigaspora</i>	21	7	0	28	5	38	0	43	6	6	0	12
<i>Glomus</i>	7	165	1027	1199	20	280	730	1030	31	264	597	892
<i>Scutellospora</i>	3	31	202	236	42	87	492	621	15	84	234	333
Total	71	420	1260	1751	125	625	1278	2028	79	396	833	1308
Género	Fátima				Mi Recuerdo							
	425 μm	90 μm	25 μm	Total	425 μm	90 μm	25 μm	Total				
<i>Acaulospora</i>	13	88	44	145	44	106	53	203				
<i>Gigaspora</i>	3	4	0	7	24	19	0	43				
<i>Glomus</i>	39	153	848	1040	24	148	707	879				
<i>Scutellospora</i>	29	73	418	520	20	132	306	458				
Total	84	318	1310	1712	112	405	1066	1583				

poco influyen en la densidad de micorrización existente y más bien se puede atribuir a los componentes que tenga el suelo, por ejemplo la salinidad y la cantidad de fósforo (P), tal como menciona Tena (2002), quien evaluó las características físicas y químicas de suelos salinos y halló que estos factores afectan la presencia y diversidad de hongos micorrízicos en la rizósfera de las plantas y demostró que a mayor concentración de sal y de P en el suelo, existía menor densidad micorrízica y a menor concentración de sal y P en el suelo existía mayor penetración de los hongos en las plantas. Pese a que en la presente investigación realizada en SAF-C no se hizo un estudio de salinidad ni de contenido de P en los suelos muestreados, se considera que los resultados obtenidos de acuerdo a los hallazgos previos pueden estar ligados a los factores antes mencionados.

Por último es importante mencionar que la prevalencia del género *Glomus* con un alto índice de número de esporas en todos los suelos de SAF-C muestreados, demuestra la facilidad que tienen los representantes de este género para colonizar raíces de cacao. Además en nuestro país se conoce muy poco sobre estos microorganismos benéficos y la obtención de estos hongos micorrízicos asegura la producción de inóculos que servirán como biofertilizante para que las plantas obtengan mayor producción de biomasa,

mayor crecimiento relativo, mayor supervivencia al trasplante y por ende esto sería beneficioso porque se tendría una disminución considerable de gastos en insumos agrícolas: fertilizantes, agua y pesticidas.

LITERATURA CITADA

- Azcón, C; Barea, J. 1997. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture significance and potentials. *Scientia Horticulture* 68:1-24.
- Bolaños, M; Rivillas, C; Suárez, S. 2000. Identificación de micorrizas arbusculares en suelos de la zona cafetera Colombiana. *CENICAFE* 51(4):245-264.
- Brundrett, M; Bouguer, N; Dell, B; Malajczuck N. 1996. Working with mycorrhizae in forestry and agriculture. Canberra, AU. *ACIAR Monograph* 32.374. Pirie Printers. 369 p.
- Cardona, G; Arcos, A; Murcia, U. 2005. Abundancia de actinomicetos y micorrizas arbusculares en paisajes fragmentados de la Amazonía colombiana. *Colciencias*. Bogotá, Colombia. 128 p.
- Castillo, C. 2005. Biodiversidad y efectividad de hongos micorrízicos arbusculares en ecosistemas agro-forestales del centro sur de Chile. Tesis Ph. D. Temuco, CL. Universidad de la Frontera, Chile. 124 p.

- Coyne, M. 2000. Microbiología del suelo. Un enfoque exploratorio. Micorrizas. Paraninfo. Madrid, España. 416 p.
- Gerderman, J; Nicholson, T. 1963. Spores of mycorrhizal endogene species extracted from soil by wet sieving and decanting. Transactions of the British Mycological Society 46:235-244.
- Giovanetti, M; Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular infection in roots. New Phytologist 84:489-500.
- INVAM (International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi). sf. Arbuscular mycorrhizal fungi. Key to fungi in glomales. (en línea). Consultado 30 jul. 2009. Disponible en <http://invam.caf.wvu.edu/index.html>
- Jaimez, R. 1997. Aportes de macronutrientes en agrosistemas de cacao con frutales en la región de Tucaní. Universidad de Los Andes. Facultad de Ciencias Forestales y Ambientales. Centro de Estudios de Forestal. Mérida, Venezuela. 103 p.
- Klironomos, J. 2003. Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. Ecology 84(9):2292-2301.
- León, D. 2006. Evaluación y caracterización de micorrizas arbusculares asociadas a *Manihot sculenta* sp. (Yuca) en dos regiones de la amazonía colombiana. Tesis Mag. Sc. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 125 p.
- Morales, R; Durango, W. 2008. Resultados en la obtención de inóculos nativos de hongos micorrízicos en cultivos de cacao (*Theobroma cacao*) y soya (*Glycine max*). In XI Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo. Quito, Ecuador. p. 1-9.
- Peterson, R; Massicotte, H; Melvilla, L. 2004. Mycorrhizas: Anatomy and cell biology. Ottawa, CAN. NRC, Research Press. 173 p.
- Phillips, J; Hayman, D. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vascular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection". Transactions of the British Mycological Society 55:158-161.
- Posada, R; Franco, L; Medina, E. 2005. El tiempo de establecimiento de pasturas y su relación con la micorriza arbuscular en paisajes de Loma y Vega. Departamento de Biología. Caquetá, Colombia. 64 p.
- Powell, C; Bagyaraj, D. 2000. MA Mycorrhiza. Florida. Printed in the United States. 232 p.
- SAS/STAT®. 2002. Versión 9.0 del sistema SAS para Windows. Copyright 2002 SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Silva, R. 1997. Evaluación de los sistemas agroforestales en la provincia de Los Ríos. Tesis de Ing. For. Quevedo, Ecuador. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. 62 p.
- Smith, S; Read, D. 1997. Mycorrhizal symbiosis. 2 ed. Academic press limited. Londres, England. 605 p.
- Tena, A. 2002. Presencia de hongos micorrízicos arbusculares en plantas silvestres de suelos salinos en el estado de Colima. Tesis M.Sc. Universidad de Colima. Colima, Colombia. 124 p.
- Thompson, J. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility. In Stewart, BA. Advances in soil sciences. Springer-Verlag, New York. p. 1-40.
- Van der Heijden, M. 1998. Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure. Ecology 79(6):2082-2091.

