

**AVANCES TECNOLÓGICOS EN LA APLICACIÓN DE INOCULANTES
MICORRÍMICOS ARBUSCULARES EN EL CULTIVO DE CAFÉ Coffea arabica L.**



VÍCTOR MANUEL DÍAZ MUÑOZ
Código: 4616121

Monografía presentada Como requisito para optar al título de Agrónomo

Director
OSCAR EDUARDO SANCLEMENTE REYES. PhD.

UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA - UNAD
ESCUELA DE CIENCIAS AGRICOLAS PECUARIAS Y DE MEDIO AMBIENTE
ECAPMA
CEAD PALMIRA
2014

DEDICATORIA

Deseo agradecer primeramente a Dios por la vida, amor y sabiduría brindada para la consolidación de este proyecto de grado a quien dedico mis éxitos. De igual manera un agradecimiento profundo a personas especiales, por el valioso apoyo de mis padres Rogelio y Limbania, a mis hermanos Edwin Alexander, Darlyn, Yuly Viviana, al amor de mi princesa amada Lina María Sánchez Gil, a mi hijo precioso Juan José, a mi querida abuela Josefina Rivera q.e.p.d., a mi tíos Salomón, Martha Lucia, Edil; a mis amigos William Delgado, Carlos Roa y familia, Carolina Medina, por el cariño y confianza depositada, a mis sobrinos, tíos, abuelos, a todos mis familiares y amigos; los cuales son parte del logro de este peldaño en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

La realización del presente proyecto de grado fue posible gracias al acompañamiento y apoyo especial brindado por parte de excelentes profesionales, motivo por el cual ofrezco mis más sinceros agradecimientos a:

Oscar Eduardo Sanclemente Reyes. Doctorado en Agroecología; Director encargado de realizar la supervisión de la presente monografía, a quien expreso nuestra más profunda gratitud por brindarme la oportunidad de trabajar bajo su supervisión. Gracias a su apoyo, sugerencias, directrices claras, pertinentes, dedicación y aportes sustanciales con lo cual se hizo posible la adecuada realización de esta monografía.

William Delgado Parra. Ingeniero Civil; Especialista y director de laboratorio de suelos, por todo el apoyo incondicional con su valiosa amistad, confianza, credibilidad y vital apoyo logístico brindado durante mi desarrollo académico lo cual hace posible este logro..

Carlos Omar Patiño Torres. Doctorado en Ciencias Agropecuarias, por su apoyo y los valiosos aportes para la adecuada perfilación de este trabajo.

Salomón Díaz Valencia. Doctorado en Lenguas Modernas, por su valioso apoyo en lineamientos de organización, recomendaciones, revisiones, traducción profesional. Aportes de vital importancia para el logro de este trabajo.

A mis tutores, personal académico y administrativo de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia.

A todos, mil y mil gracias. Dios los continúe bendiciendo.

ÍNDICE

	Pág.
INTRODUCCIÓN.....	10
1. APORTES DE LOS HONGOS MICORRÍDICOS ARBUSCULARES A LA AGRICULTURA Y MEDIO AMBIENTE.....	12
1.1 Clasificación taxonómica de los HMA.....	13
1.2 Interacción simbiótica y beneficios de los HMA en las plantas.....	15
1.3 Efecto de los HMA en el crecimiento y la nutrición del café. <i>Coffea arabica</i> L.....	16
2. AVANCES TECNOLÓGICOS EN LA APLICACIÓN DE INOCULANTES MICORRÍDICOS EN CULTIVO DE CAFÉ <i>Coffea arabica</i> L.....	20
2.1 Técnicas con base de suelo.....	211
2.1.1 Método raíz inoculada en suelo.....	211
2.1.2 Método inoculo mixto.....	222
2.2 Técnicas sin base de suelo.....	222
2.2.1 Método en cultivo hidropónico.....	222
2.2.2 Método cultivo aeropónico.....	233
2.2.3 Método cultivo monoaxénico o in-vitro.....	233
2.2.4 Método integrado.....	233
2.3 Técnicas de aplicación de los IM en el cultivo de Café <i>Coffea arabica</i> L.....	244
2.3.1 Técnicas tradicionales.....	244
2.3.2 Técnicas actuales.....	27
Técnicas de aplicación en Drench.....	277

3. CONCLUSIONES.....	299
4. CONSIDERACIONES FINALES	30
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
ANEXOS	40

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Clasificación taxonómica de los HMA	14
Figura 2. Esquema de una raíz micorrizada y sus componentes esenciales	16
Figura 3. Contribución de los IM al desarrollo de las plantas	17
Figura 4. Aplicación tecnológica de la interacción suelo- planta- microorganismo	18
Figura 5. Técnica de aplicación de IM en germinador de café	24
Figura 6. Técnica tradicional de aplicación de los IM en almácigo de café (Trasplante a raíz desnuda)	24
Figura 7. Técnica tradicional de aplicación de los IM en almácigo de café establecido 25	
Figura 8. Técnica de aplicación de los IM al momento de siembra de café.	26
Figura 9. Técnica actual de aplicación de los IM en almácigo y cultivos establecidos de café 27	

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Ensayos de campo de la inoculación micorrízica en cultivos.	40
Anexo 2. Criterios a tener en cuenta para la producción de inoculantes biológicos	41
Anexo 3. Nivel de toxicidad de los ingredientes activos insecticidas sobre los HMA	42
Anexo 4. Nivel de toxicidad de los ingredientes activos fertilizantes obre los HMA	43
Anexo 5. Nivel de toxicidad de los ingredientes activos fungicidas sobre los HMA	43
Anexo 6. Nivel de toxicidad de los ingredientes activos herbicidas sobre los HMA	44

RESUMEN

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA), son el recurso biológico del suelo más estudiado en los últimos años, siendo reconocidos por su importancia para el desarrollo agrícola y la sostenibilidad ambiental. El uso de inoculantes micorrícicos (IM) en la agricultura contribuye a la racionalización de fertilizantes, la conservación del suelo, el adecuado desarrollo y productividad de los cultivos, así como a la sanidad y tolerancia vegetal a factores adversos como el déficit de agua, la salinidad y acides del suelo, entre otros. La presente investigación monográfica tuvo como objetivo describir los avances tecnológicos en la aplicación de IM en el cultivo de café *Coffea arabica* L. con miras de mejorar su productividad, competitividad y sustentabilidad. A partir de información secundaria y datos obtenidos de empresas colombianas, se pudo establecer que la producción de IM a gran escala se fundamenta en el aislamiento, caracterización y reproducción de especies altamente eficientes, la mejora biotecnológica del reconocimiento planta- HMA a partir de metabolitos secundarios como los isoflavonoides y el complemento de estos inoculantes con bacterias solubilizadoras de fósforo y otros microorganismos benéficos en función de sinergia. Adicionalmente, se ha incrementado a nivel industrial la concentración de propágulos como el caso de los IM a base de polímeros, caracterizados por su eficiencia simbiótica, alta calidad fitosanitaria y portabilidad tecnológica. En avances tecnológicos con IM para café se destaca la técnica Drench, en etapas de almácigo e inicios fenológicos de la plantas en campo, gracias a su fácil implementación y reducción de costos. Los resultados de carácter técnico- científico de esta investigación, pretenden responder a la necesidad de contar datos actualizados en IM para el cultivo de café, cuyo uso favorece a productores e investigadores de este importante sector de la economía nacional.

Palabras claves: Biotecnología, micorrizas, sostenibilidad, productividad.

ABSTRACT

HMA, arbuscular mycorrhizal fungi, are the biological soil resource most studied in recent years. They've being recognized for their importance for agricultural development and environmental sustainability. The use of mycorrhizal inoculants (IM) in agriculture contributes to the rationalization of fertilizer, soil conservation, proper development of crops, good productivity as well as the health of the plants and tolerance to adverse factors such as water deficit, salinity, soil acidity and others. This monographic study aimed to describe the technological advances in the application of IM in the cultivation of coffee *Coffea arabica* L. in order to improve their productivity, competitiveness and sustainability. From secondary information and data obtained from Colombian companies, it was established that the production of large-scale IM is based on the isolation, characterization and reproduction of highly efficient species, improved planting biotech HMA recognition from secondary metabolites as isoflavones and the complement of these inoculants with phosphorus solubilizing bacteria and other beneficial organisms depending on synergy. In addition, it has being increased, to an industrial level, the concentration of propagules, as is the case of the IM based on polymers. The lattes are characterized by their symbiotic efficiency, high phytosanitary quality and technological portability. In technological advances with IM, for coffee, the Drench technique is highlighted in nursery and phenological stages of the plants early in the field, thanks to its easy implementation and cost reduction. The results, of technical-scientific nature, of this research, aim to respond to the need for updated IM coffee growing data whose use promotes producers and researchers in this important sector of the Colombian national economy.

Key words: Biotechnology, mycorrhizas, sustainability, productivity.

INTRODUCCIÓN

El uso intensivo de fertilizantes e insumos de síntesis química en sistemas de producción cafetera, ha sido duramente cuestionado dado a sus impactos negativos sobre los ecosistemas naturales, la degradación del suelo y la liberación de gases de efecto invernadero GEI (Aguado, 2011). Por ello, existe una conciencia generalizada hacia la búsqueda de estrategias urgentes para la adopción de tecnologías agrícolas, que además de mantener de la productividad en los cultivos, genere impactos mínimos al medio ambiente (Aguado, 2011).

En este sentido los hongos micorrícicos arbúsculares HMA se manifiestan como una alternativa viable con el medio ambiente y el entorno, tomando gran importancia como recurso biológico y representan un papel fundamental para la producción agrícola. Creando la necesidad de recuperar estas poblaciones e integrarlas al suelo. A través de la biotecnología agrícola, se puede avanzar en el desarrollo y producción de inoculantes micorrícicos IM, al tiempo que se mejoran las técnicas de aplicación en campo. Con ello, se busca contribuir al mejoramiento de la productividad de los cultivos de café y mitigar los problemas ambientales asociados, exaltando el papel de la biodiversidad como factor clave para el desarrollo de la agricultura ecológica (Sanclémente *et al.*, 2012).

El presente estudio monográfico, responde las siguientes preguntas en particular: ¿Cuáles son los aspectos más importantes en el proceso de interacción simbiótica de los hongos micorrícicos arbúsculares?, ¿Cuáles son los principales beneficios de los HMA en las plantas?, ¿Cuáles son las principales técnicas de producción de IM? y ¿Cuáles son las técnicas aplicación de IM para el cultivo de Café?. El conocimiento construido a partir de estos interrogantes, servirá de insumo enfocar al lector en los avances tecnológicos para la aplicación de IM en el cultivo de Café.

El estudio se divide en dos capítulos: el primero, hace referencia a los aportes de los HMA a la agricultura y al ambiente, el segundo evidencia los principales avances tecnológicos

en la aplicación de los IM en el cultivo de café *Coffea arábica* L. Finalmente, se presentan las conclusiones, además de algunas consideraciones finales sobre el uso de esta tecnología biológica en condiciones de campo.

1. APORTES DE LOS HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES A LA AGRICULTURA Y EL MEDIO AMBIENTE

Para mejor la comprensión del tema, es necesario hacer un breve recorrido histórico que brinde mayores luces acerca del estudio de un grupo de hongos que realiza simbiosis con las raíces de la mayoría de las plantas (Thangadurai, 2010); cuya presencia se remonta al período silúrico, hace aproximadamente 400 millones de años (Thangadurai, 2010). Esta simbiosis incidió en la aparición de las primeras plantas en el planeta tierra, favoreciendo su propagación a las diferentes latitudes (Andrade, 2010), por lo cual son reconocidos como un grupo bastante extendido y en condiciones naturales; hacen presencia en diferentes superficies de suelo como por ejemplo en las montañas, áreas cultivables, en pantanos, e incluso espacios acuáticos (Pérez & Rojas, 2011).

Al referirse a esta simbiosis, inicialmente sólo se mencionaban aspectos morfológicos de la asociación, sin embargo, posteriormente los investigadores determinaron que comprometía un campo mucho más amplio. Es así como en 1960, ya se distinguían tres tipos de asociación simbiótica con este grupo de hongos: *ectotrófica*, *endotrófica* y *ectendotrófica* que articulaban un sentido fisiológico; pero que para Wilde & Lafond (1967), se trataba de una connotación puramente morfológica y estructural.

En el año 1885, el botánico alemán Albert Bernard Frank, consolida la definición del término “micorriza” procedente del griego “mykos” que significa hongo y del latín “rhiza” que significa raíz, traducido literalmente “hongo-raíz”, definiendo así la asociación simbiótica o mutualista entre el micelio de un hongo y las raíces o rizoides de una planta terrestre (Joao 2002), adicionalmente se estableció como la simbiosis más extendida en todo el ecosistema terrestre, realizada por lo menos entre el 70 y 90% de las plantas vasculares (Smith & Read, 2008).

1.1 Clasificación taxonómica de los HMA

En lo que respecta a su estructura, las micorrizas se dividen en dos grupos: ectomicorrizas y endomicorrizas (Read, 1999). Las ectomicorrizas se caracterizan porque en su proceso de simbiosis, forman una capa espesa de micelio sobre la zona cortical de las raíces absorbentes de la planta; las hifas del hongo no penetran en el interior de las células de la raíz, si no que se ubican sobre sus separaciones (Andrade, 2010). Las endomicorrizas en cambio, se caracterizan por su facilidad para colonizar intracelularmente el córtex radical; es decir, no se forma un manto externo visible a simple vista, sino que las hifas se introducen inicialmente entre las células de la raíz, luego penetran en su interior, dando paso a la formación de vesículas alimenticias y arbusculos. De allí el nombre de hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA) (Fernández, *et al* 2005).

Con respecto a las **ectendomicorrizas**, hay que decir que presentan características intermedias, manto externo y también pueden penetrar en el interior de las células, pero en ellas no se forman arbusculos ni vesículas (Allen *et al* 2003). Este grupo se presenta tanto en Basidiomycota como Ascomycota y son más abundantes en angiospermas que en gimnospermas (Martín, 2011).

Por su parte, las **orquidoides o micorrizas de oville** son endomicorrizas de orquídeas; imprescindibles para su desarrollo y vida juvenil. Una vez que la planta alcanza su madurez fenológica, generalmente se independiza del hongo (Read, 1999, Ordoñez *et al* 2013). Cabe anotar que, dentro de este mismo grupo se encuentran las *ectendomicorrizas, orquidoides, ericoides, arbutoides* y *monotropoides* (Sieverding 1990, citado por Castañeda, 2011).

En lo que se refiere a las **ericoides**, son el tipo más sencillo y simple con raíces muy simples e hifas que penetran en las células para formar ovillos (Ordoñez. 2013). Las **arbutoides**, presentan un manto externo junto con hifas que penetran las células para formar

culos. Finalmente, están las **monotropoides**, cuya forma de penetración de las hifas en las células radicales es algo diferente (Martín 2011).

La necesidad de avanzar rápidamente en la exploración de nuevas especies, conlleva la utilización de métodos más eficientes, como los análisis filogenéticos de datos moleculares (Krueger, 2010), puesto que son mucho más efectivos que el método tradicional que se basa en el uso de caracteres morfológicos. A partir de esta tecnología, se ha logrado establecer un número cada vez mayor de descripciones, especialmente del género *Glomeromycota*, que en la actualidad llega a cerca de 228 especies descritas, de las cuales aproximadamente el 50% están disponibles y, solo 81 spp. Se encuentran como colecciones de cultivos, por ejemplo: La Colección Internacional de Cultura de los HMA (Morton & Msiska, 2010). Solo hasta principios del año 2012, se logró obtener información de la secuencia molecular de las HMA de genomas mitocondriales en dos publicaciones completas (Corradi & Bonfante, 2012).

De acuerdo a sus características, en la actualidad existen 4 grupos, 11 familias, 16 géneros y 228 especies, siendo el género *Glomus* el más abundante, caracterizado por su facilidad para colonizar intracelularmente el córtex radical, con manto externo que no puede verse a simple vista (Shubler A. & Walker, 2010). Ver Figura 1.

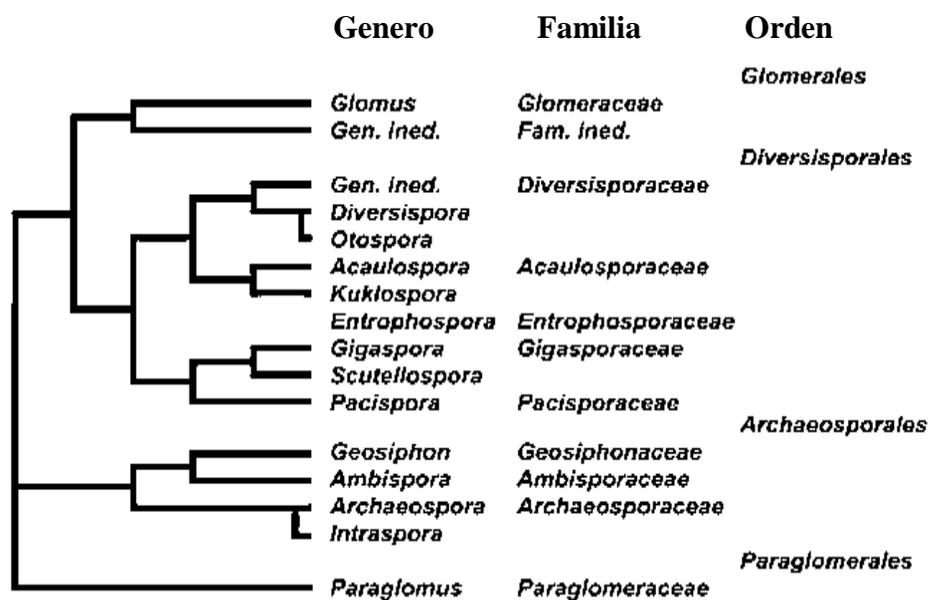


Figura 1. Clasificación taxonómica de los HMA

Fuente. Krueger (2010).

1.2 Interacción simbiótica y beneficios de los HMA en las plantas

La interacción o simbiosis de las HMA, es concebida como el proceso de cooperación en el cual, la planta y el hongo se benefician mutuamente (Thangadurai, *et al*, 2010), a partir del reconocimiento de señales moleculares en sus fases. En este proceso, participan metabolitos secundarios como el 7-hidroxi 4-metoxi isoflavona (formononetina), el cual contribuye a la regulación de la simbiosis micorrízica en la etapa de reconocimiento y de colonización (Akiyama *et al.*, 2002; Larose *et al.*, 2002). Al tiempo que desarrollan la colonización intrarradical, las hifas del HMA forman ramificaciones externas, actuando estas como puente conector entre el suelo y el interior de la raíz (Collados, 2006).

En el proceso de simbiosis, el hongo obtiene fotosintatos (carbohidratos) y otras fuentes de carbono para su metabolismo (Cooper, 1984), además de encontrar un nicho apropiado para desarrollarse. La planta por su parte, mejora la morfología y crecimiento de las raíces, (Reidinger, 2012; Smith & Read, 2009), gracias a la formación de un extenso micelio extra radical (Requena *et al*, 2007), que le permite explorar hasta un 47% más el volumen de suelo, con relación a la ausencia de la simbiosis y, mejorando así la absorción de nutrientes como P, Cu, Zn, N, Mn, S (Kogel, 2008; Yao, Wang, Zhu y Chen 2009; Sánchez de P. *et al*, 2012). Adicionalmente, la simbiosis mejora la tolerancia al estrés hídrico en la planta (Heidari & Karami, 2012; Pérez, *et al*, 2011), logrando un mejor crecimiento y desarrollo (Turk *et al*. 2006). Los HMA también favorecen a la planta, en la medida que facilitan la activación de mecanismos de defensa para la protección contra patógenos de suelo (Faggioli & Juárez, 2012, González 2007). A nivel de la protección vegetal, en la simbiosis se presenta resistencia inducida del control de patógenos foliares, comedores de hojas y necrótrofos, estando su acción ligada a los niveles de ácido jasmónico en tejidos, cuyo efecto genera rápido crecimiento y respuesta de defensa en la planta (Ramírez, Rodríguez & Alía 2012).

A nivel de la MA, la planta genera exudados radiculares además de otros compuestos que son indispensables para la germinación de las esporas y el crecimiento de las hifas germinativas (Ramírez y Rodríguez, 2010). No obstante, se requiere de armonía y alta

coordinación a nivel fisiológico, morfológico y genético, para lo cual es indispensable la constante comunicación celular y molecular entre los organismos involucrados en la simbiosis (Parniske, 2008). El sinergismo y antagonismo entre vías de señalización, permiten afinar el mecanismo de defensa más adecuado (Chisholm *et al*, 2006), con el objetivo de que la planta admita a los HMA, sin dar lugar a que ingresen organismos ajenos al proceso de colonización (Massoumou *et al*. 2007). Cuando dicho proceso se halla bien establecido, los hongos pueden formar vesículas (estructuras ovaladas o esféricas) que almacenan lípidos, los cuales se desempeñan como órganos de reserva, ya sea intra o intercelularmente (Pérez & Rojas, 2011) como lo muestra la Figura 2.

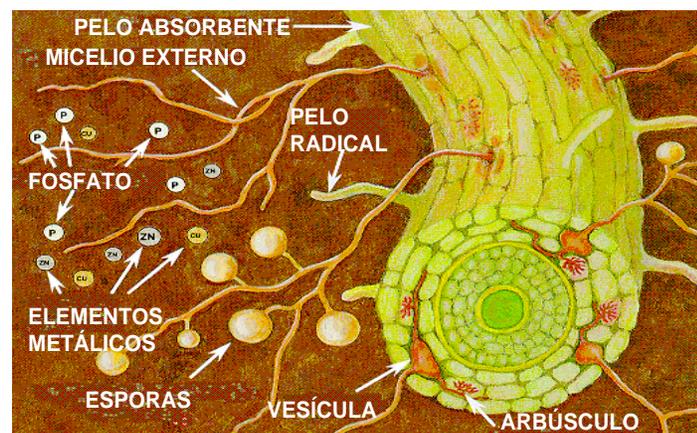


Figura 2. Esquema de una raíz micorrizada y sus componentes esenciales
Fuente. Siqueira (2000).

1.3 Efecto de los HMA en el crecimiento y la nutrición del café *Coffea arábica* L.

El cultivo del café en Colombia, está ligado al uso intensivo de insumos de síntesis química, lo cual ha dado lugar al deterioro de los suelos, viéndose esto reflejado en la producción, calidad del producto y el deterioro de los ecosistemas (Gómez *et al.*, 2011). Lo anterior, demanda la implementación de alternativas tecnológicas para el mejoramiento de la productividad (Salvioli & Bonfante, 2013), como la simbiosis MA en este cultivo (Parra *et al.*, 1990). Sin embargo, la baja concentración de HMA en algunos suelos de zona cafetera en Colombia, genera la necesidad de recurrir a los inoculantes micorrízicos IM, gracias a sus beneficios tanto a nivel de plantas cultivadas, como al suelo y al ambiente.

La contribución de los HMA a las plantas de café se debe a efectos tanto nutricionales como no nutricionales, siendo importante su efecto sobre la acción biofertilizadora, biorreguladora y bioprotectora del crecimiento de las plantas colonizadas (Anexo 1). La acción biofertilizadora es la más importante, porque está directamente relacionada con el aporte de nutrientes (Siqueira, 2000), siendo clave en sistemas de cultivo con baja disponibilidad de P. Sin embargo, la eficiencia simbiótica se ve afectada por condiciones edafoclimáticas, como el pH y la humedad de suelo, que influyen en la colonización micorrícica y la concentración de esporas en el suelo (Carrenho y Rosilane, 2007; Barrer, 2009). Ver Figura 3.

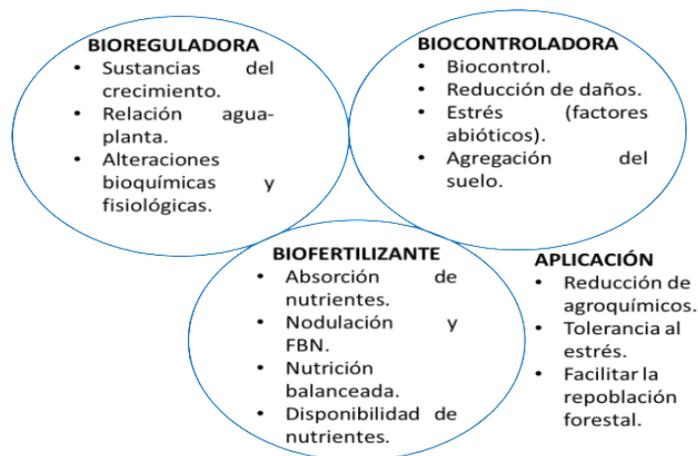


Figura 3. Contribución de los IM al desarrollo de las plantas
Fuente. Siqueira (2000).

En el suelo, se ha evidenciado que las micorrizas mejoran sus propiedades físicas y químicas por medio del enriquecimiento de materia orgánica y la formación de agregados a través de la Glomalina (proteína que segrega el micelio), fortaleciendo su estructura y estabilidad, disminuyendo la erosión y aumentando la capacidad de retención de agua (Finlay, 2008). A nivel biológico, es importante la interacción de los HMA con diversos grupos de macro y microorganismos de la rizósfera, lo que favorece algunos procesos ecológicos como el ciclaje de los nutrientes N y P, por intermediación de los hongos con bacterias fijadoras de N₂ y microorganismos solubilizadores de fosfatos (Bolaños & Sáenz 2009).

Otro beneficio de los HMA en el suelo, es la estabilización de metales pesados (Alvarado & Dasgupta, 2011), por acción de la glomalina (sustancia pegajosa), que crea una superficie que favorece la retención de elementos como Cu, Cd y Pb (Yang *et al*, 2010), reduciendo su disponibilidad para las plantas (González-Chávez, 2004; Joner, Briones & Leyval, 2000). Para el caso específico de suelos contaminados con Pb, se ha logrado extraer hasta 1.12 mg Pb/g de glomalina (González-Chávez *et al.*, 2004), representando entre 0.8 y 15.5 % del Pb total disponible en la solución del suelo (Vodnik *et al.*, 2008).

Adicionalmente, los HMA actúan directa o indirectamente sobre la microflora del suelo (Ver Anexo 2), estimulando los procesos de liberación de nutrientes que se encuentran retenidos en la materia orgánica o ligados a la fracción mineral (Sánchez de Prager *et al.*, 2007). Algunos investigadores han registrado incrementos en la estabilidad de los agregados del suelo con la presencia de raíces colonizadas con HMA, lo que se relaciona con aumentos de la biomasa microbiana y el aumento de la productividad (Martin *et al.*, 2012). Ver Figura 4.

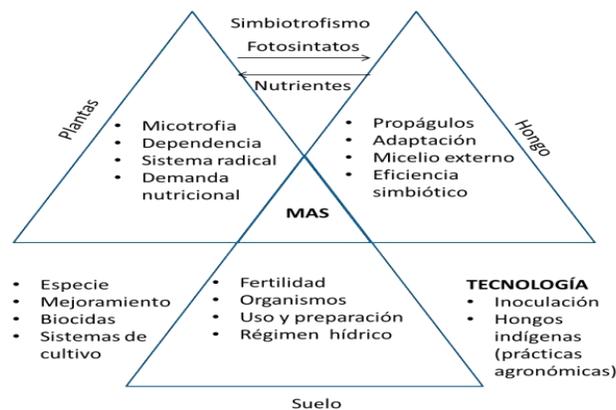


Figura 4. Aplicación tecnológica de la interacción suelo- planta- microorganismo
Fuente. Siqueira (2000).

En este sentido, los IM se convierten en una alternativa para enfrentar los problemas ambientales y ecológicos existentes (Finlay, 2008), siendo de gran utilidad en la restauración de áreas donde las poblaciones indígenas hayan sido drásticamente reducidas por influencia humana o perturbación natural (Isaac, 1992), toda vez que permite mayor agregación del suelo a través del micelio extra radical, brindando mejor protección del medio ambiente (control de

la erosión y regeneración de la cobertura vegetal en suelos degradados) (Guerrero *et al*, 2009), generando impactos positivos en la mitigación del calentamiento global (Yang *et al*, 2013).

2. AVANCES TECNOLÓGICOS EN LA APLICACIÓN DE INOCULANTES MICORRÍCICOS EN CULTIVO DE CAFÉ *Coffea arábica* L.

El inoculante micorrícico IM es un insumo biológico, compuesto por altas concentraciones de microorganismos, ya sean esporas, micelio o propágulos infectivos, para beneficiar a la planta, mediante estimulación de su desarrollo fisiológico y/o control preventivo contra patógenos (Vázquez, 2007). De allí que los IM, sean constituidos por esporas, hifas, fragmentos de cuerpos fructíferos o raíces colonizadas (Ferrera-Cerrato, 1999).

Aunque no se registran datos históricos exactos acerca de la fabricación de los primeros IM, se conoce que a nivel comercial aparecieron en los años 1929 – 1930 (Bashan & Holguin, Citados por Aguado & Santacruz, 2011). Ya en la década de 1980, la fabricación de IM se centró especialmente en la asimilación y absorción de nutrientes (especialmente el fósforo), llegando a ser considerado como biofertilizantes, lo cual resulto un poco confuso, puesto que en sentido estricto la micorriza no es un fertilizante sino un promotor del ciclaje de nutrientes (Guerrero *et al*, 1996).

Es importante anotar, que para la utilización de inóculos micorrícicos en campo, se debe cumplir con las siguientes condiciones: ausencia o poca eficiencia de hongos micorrizogenos nativos, baja fertilidad del suelo y medio a alto grado de micotrofia del cultivo a inocular (Guerrero *et al* 1996). Por tratarse un insumo bilógico se hace pertinente realizar un control de calidad previo tanto del inoculo como de los medios de reproducción (Ver Anexo 2), a fin de obtener la integración adecuada de los IM en los sistemas de producción, de tal manera que se garanticen los beneficios de la inoculación (Cano, 1990; Isaac, 1992) como lo muestran los Anexos 3, 4, 5 y 6.

En cuanto a la producción y aplicación de inoculantes biológicos, se han generado importantes avances tecnológicos, entendidos estos últimos como la búsqueda constante de mejorar un orden de conocimiento de tal forma que puedan ser llevados a la práctica, ya sea a partir del uso de dispositivos o manualmente (Benítez *et al* 2003). Es así como se busca

mejorar las características de calidad en la producción de los inoculantes para el uso a gran escala en los cultivos, para ser utilizados con técnicas de aplicación adecuadas y garantizar la eficiencia simbiótica de las inoculaciones (Isaac 1992). Ver Anexo 2.

Por lo anterior, es de gran importancia evidenciar las tecnologías más utilizadas para la fabricación de inoculantes micorrícicos, las cuales están enmarcadas en dos grupos: técnicas con base de suelo y técnicas sin base de suelo.

2.1 Técnicas con base de suelo

Esta técnica, consiste en la producción del IM a partir de un sustrato sólido, basándose en cuatro pasos fundamentales: El primero, realizar el aislamiento de la cepa o cultivo puro del IM. El segundo, es la selección de la planta hospedera y, el tercero es la nutrición de la planta hospedera. Finalmente, el cuarto es la inducción de estrés hídrico de la planta mediante la poda de su área foliar, para estimular la esporulación de los HMA (Khaliq & Bagyaraj, 2010).

2.1.1 Método raíz inoculada en suelo. Para el desarrollo de este método se comienza con la selección y aislamiento de esporas de suelo de alta calidad en macetas, en donde se multiplican las cantidades requeridas, ya sea con una o varias especies de HMA (cultivos puros o mixtos). En este método se necesitan esporas, raíces colonizadas o micelio extra radical como propágulos (Sieverding, 1991). Estos propágulos son colocados en recipientes de sustrato estéril: arena, vermiculita, perlita, suelo o la mezcla entre algunos de ellos. Es así como se obtienen inoculo para aplicar en campo, el cual contiene esporas e hifas (Khaliq & Bagyaraj, 2010). Cuando germinan las semillas, se riegan con agua y soluciones nutritivas con baja concentración de P para facilitar la colonización y esporulación por parte de los hongos, guardando coherencia con el sustrato utilizado (Jarstfer & Silvia citado por Jiménez, 2013). Este método ha sido muy utilizado con frecuencia por su bajo costo, sin embargo se han encontrado limitaciones en la producción por el alto riesgo de contaminación e inestabilidad

genética (Khaliq & Bagyaraj, 2010). Adicionalmente, cabe señalar que las características fisicoquímicas de los sustratos utilizados en este método, no favorecen la eficiencia del proceso de colonización, lo que hace que el rendimiento sea menos que el esperado (Jiménez, 2013), limitando la obtención de inóculos de alta calidad a escala comercial.

2.1.2 Método inóculo mixto. El IM puede ser puro o mixto, dependiendo del número de especies incorporadas en el mismo. Los HMA pueden formar parte de inóculos multiagentes que contienen diferentes tipos de microorganismos, donde a cada uno se le atribuye algún rol asociado a la promoción del crecimiento y la sanidad del cultivo (Guerrero *et al.*, 1996).

Hay evidencias, que los inóculos mixtos garantizarían una colonización múltiple de hongos con diferentes estrategias ecológicas y por consiguiente, una mayor probabilidad de establecimiento exitoso de la simbiosis en tiempo y espacio (Sieverding, 1991). Este tipo de inóculo resulta de gran importancia en programas de revegetación en zonas no muy conservadas, debido a la diversidad de plantas hospederas (Guerrero *et al.*, 1996).

Dada la especificidad ecológica de los hongos HMA, los productos comerciales tendrán que estar formulados para condiciones específicas de suelo, además de contar con excelente control de calidad de los inóculos; por tratarse de un insumo biológico, este debe enfatizar en la viabilidad y efectividad de los propágulos del hongo y en la sanidad del sustrato de crecimiento (Guerrero *et al.*, 1996).

2.2 Técnicas sin base de suelo

Como su nombre lo indica, estas técnicas no requieren base de suelo para producir IM, dado que se desarrollan en otros medios de cultivo.

2.2.1 Método en cultivo hidropónico. Se basa en la utilización de arcilla calcinada, asociada con suplementos como la solución mineral Long Ashton, que ha demostrado grandes

beneficios para el crecimiento de las plantas, sin necesidad de utilizar suelo como medio de crecimiento. A partir de este método, se dio inicio a la utilización de la arcilla expandida como un material de soporte en un cultivo hidropónico, también conocido como sistema de flujo que favorecen la formación y cosecha de propágulos de manera práctica (Khaliq, 2010).

2.2.2 Método cultivo aeropónico. Este método supone grandes ventajas debido a que no requiere sustrato físico en el cultivo, permitiendo así la obtención suficiente de propágulos, útiles tanto para la inoculación como para realizar estudios fisiológicos, y genéticos críticos (Thangadurai *et al.*, 2010). De acuerdo con el autor, se requiere la preinoculación de las raíces en el sustrato. Posteriormente, se colocan las plántulas en una cámara aeropónica sin sustrato y luego se aplica la solución nutritiva a las raíces. La cosecha de inóculos se puede realizar después de 3 o 4 semanas. Este método se utiliza con frecuencia, porque se obtiene gran cantidad de micelio y esporas con poco riesgo de contaminación. No obstante, su implementación puede resultar costosa (Khaliq, 2010).

2.2.3 Método cultivo monoaxénico o in-vitro. Consiste en la producción de IM in-vitro usando raíces transformadas por el plásmido RitDNA presente en las bacterias *Agrobacterium tumefaciens* y *Agrobacterium rhizogenes*, (Mugnier & Mosse, 1987 citado por Martin, 2003 y Rivera, 2003). Este método se realiza de la siguiente forma: esterilización superficial de esporas y raíces, e incubación de placas durante 12 semanas (Thangadurai, *et al.*, 2010), periodo en el cual se puede obtener inóculos a gran escala. Sin embargo, no es tan sencillo de desarrollar debido a que cada especie de HMA requiere diferente concentración de nutrientes en su medio de cultivo (Fortin *et al.*, 2002).

2.2.4 Método integrado. Consiste en la preparación de IM a partir del uso combinado rizobacterias promotoras de crecimiento, bacterias solubilizadoras de fosforo u otros microorganismos benéficos, e isoflavonoides (Da Silva *et al.*, 1997). Se ha evidenciado que dicha combinación mejora el establecimiento de cultivos in vitro al igual que a las plántulas propagadas en condiciones de campo (Siddiqui *et al.*, 2011).

En cuanto al vehículo de propagación de los IM, es pertinente utilizar componentes como polisacáridos naturales y diversos hidrogeles hidrófilos (Vassilev *et al.*, 2005), ya sean sintéticos o semisintéticos (alginatos, arragenina, kappa o agar). Entre ellos, el alginato ofrece amplias posibilidades para su encapsulación (Zaki & Kataoka, 2011) como es el caso de IM VAM-PWI (Marx, 2013).

2.3 Técnicas de aplicación de los IM en el cultivo de *Café Coffea arabica L.*

La biotecnología se ha convertido en un factor clave para aportar al desarrollo de los IM (Bisang *et al.*, 2009), resaltando las innovaciones en la implementación de técnicas de aplicación con fines investigativos y en campo (Salvioli & Bonfante 2013). A partir de estos avances, los IM se han venido incorporando al manejo agronómico del café, donde existen importantes resultados como efecto de la inoculación en germinadores y almácigos (Parra, 1990); práctica que favorece el desarrollo fisiológico de la planta y el control preventivo de enfermedades producidas por hongos y nemátodos (Gaitán, 2011). De acuerdo con lo anterior, es de vital importancia conocer las técnicas de aplicación adecuadas, para lograr el éxito de la aplicación de los IM en campo (Cano, 1990).

2.3.1 Técnicas tradicionales. Durante muchos años, se ha buscado la posibilidad de utilizar ampliamente estos hongos benéficos en el cultivo del café, logrando desarrollar diferentes técnicas para su aplicación en diferentes etapas del cultivo. Entre estas técnicas se destacan las siguientes:

Aplicación en germinador. En esta técnica, es necesario esterilizar con anterioridad los sustratos del germinador con agua hirviendo a 80°C. Posteriormente, se deben colocar dos capas de IM, 500 gr/m² la primera a 2 cm de la ubicación de la semilla para obtener colonización en la zona apical de la raíz. La segunda capa a 500 gm/m² en contacto directo con las semillas para favorecer la colonización, a fin de que los IM puedan competir con microorganismos patógenos como *Rhizoctonia solani.*, *Meloidogyne exigua* u otros presentes en el suelo (Osorio, 2000). Ver Figura 5.

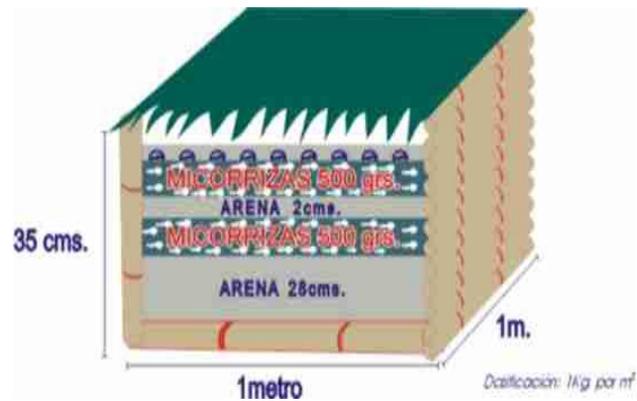


Figura 5. Técnica de aplicación de IM en germinador de café.
Fuente. Osorio (2000).

Aplicación en etapa de almácigo (enchapolado). Esta metodología busca inocular las plantas al momento del trasplante a raíz desnuda, la cual consiste en realizar un ahoyado en el sustrato de la bolsa para introducir la chapola. Posteriormente, la raíz se introduce en el hoyo y se aplica el inoculo en una cantidad de 10 a 30 gr dependiendo de la concentración del mismo, cubriendo las raíces en contacto directo y se ajustando uniformemente, para evitar excesos de aire que luego puedan ser ocupados por agua y generar algún tipo de vectores de multiplicación de patógenos edáficos (Osorio. 2000). Ver Figura 6.

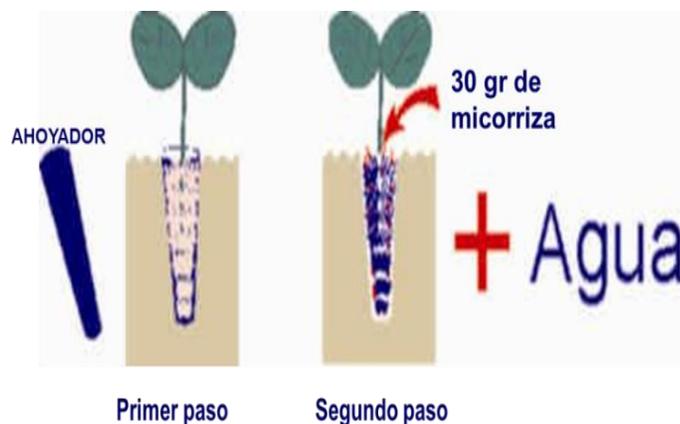


Figura 6. Técnica tradicional de aplicación de los IM en almácigo (Trasplante a raíz desnuda).
Fuente. Osorio (2000).

Aplicación en almácigo establecido. Esta metodología permite obtener los beneficios de las micorrizas introduciendo el IM a través de orificios en los extremos de la bolsa. Esta metodología tiene algunos limitantes, como por ejemplo el causar heridas en la planta por las cuales pueden ingresar microorganismos patógenos (Osorio, 2000). Ver Figura 7.

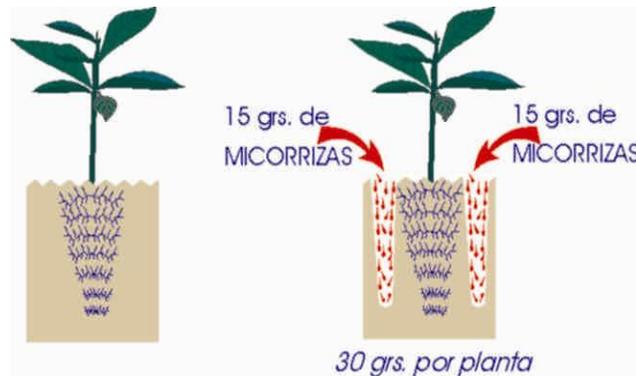


Figura 7. Técnica tradicional de aplicación de los IM en almácigo establecido.
Fuente. Osorio (2000).

Técnica de aplicación al momento de siembra. Posteriormente a la apertura de los hoyos, se procede a aplicar los correctivos y abonos orgánicos necesarios, de acuerdo a los resultados reflejados en el análisis de suelo. La inoculación se realiza el día del trasplante, aplicando el inóculos uniformemente en el contorno y la base del “Pilón”. En cuanto la cantidad de IM a aplicar, se puede decir que varía de acuerdo a la concentración, calidad y efectividad del mismo (Osorio, 2000). Ver Figura 8.

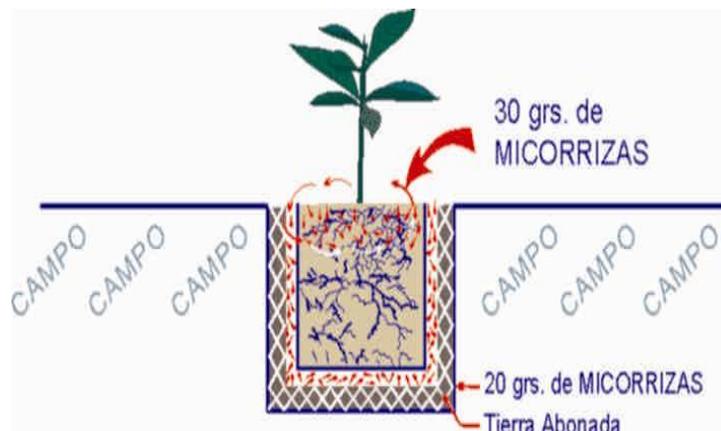


Figura 8. Técnica de aplicación de los IM al momento de siembra.
Fuente. Osorio (2000).

Con respecto a la inoculación tradicional, algunos estudios usando las anteriores técnicas evidencian resultados positivos en términos fisiológicos (desarrollo foliar y radicular), siendo estos más visibles a 100 días después de la inoculación en Café (Parra *et al.*, 1990).

2.3.2 Técnicas actuales. En la actualidad, se han evidenciado diferentes técnicas para la aplicación de los IM en campo, por tanto es oportuno describir algunas de ellas, así:

Técnicas de aplicación en Drench. Esta técnica consiste en la incorporación del inoculo soluble en agua, en la zona radicular de la planta. Esta técnica es de gran importancia en el campo agronómico, debido a sus beneficios; portabilidad tecnológica y alta concentración de inoculo (Marx, 2013); lo que permite la disminución de costos de mano de obra en la inoculación (Bainard *et al.*, 2012), Ver Figura 9.

Técnica de aplicación en almácigos y cultivos establecidos. En esta técnica, se realiza una previa preparación del IM al diluir 30 cm³ de coadyudante y homogenizar la mezcla. Luego, se deben aplicar 80 gramos de IM en 3 litros de agua, para completar a 20 Litros de agua y homogenizar. De esta mezcla se recomienda aplicar 50 cm³/planta en drench al suelo (Marx, 2013).



Figura 9. Técnica de aplicación de los IM en almácigo y cultivos establecidos

Fuente. El autor

Para aplicación del IM a base de polímero, se recomienda la utilización de bomba reguladora de presión y válvula antigoteo de retención, usando filtro con tamiz malla 50 (Ver Tabla 1), o usar bomba de espalda conectando la manguera de forma directa y, usar válvula reguladora con filtro malla 100 boquilla reguladora de presión (Marx, 2013). El IM solo se aplica una

vez, ya sea en bandejas de germinación, almacigo o en campo, en todo el ciclo del cultivo (luego no requiere aplicaciones posteriores) (Marx, 2013).

TIPO DE VÁLVULA	IMAGEN	REFERENCIA
Filtro válvula de retención con filtro con tamiz malla 50.		4193A-PP-5-5055
Válvula reguladora con filtro malla 100.		B1116SY

Tabla 1. Tipos de válvula recomendadas para la inoculación micorrízica en cultivo de café.

Fuente. El autor

3. CONCLUSIONES

- Los IM son de gran importancia dentro del manejo agronómico del cultivo de café *Coffea arábica* L., debido a sus efectos sobre la disminución de costos de producción y mitigación de ambientales que se presentan con el uso excesivo de fertilizantes de síntesis química.
- Los IM se presentan como una alternativa viable para el cultivo de café *Coffea arábica* L., gracias a sus beneficios en el control preventivo de enfermedades, mejoramiento del desarrollo fisiológico de la planta y aumentos de la producción.
- Los principales avances en la producción de los IM se fundamentan, en la utilización de especies eficientes, a partir de análisis filogenéticos de datos moleculares, el aumento de la concentración de propágulos, el mejoramiento del vehículo del IM, y la mejora del reconocimiento simbiótico con la incorporación de metabolitos secundarios (isoflavonoides). Adicionalmente, se evidencia la integración de bacterias solubilizadoras de fosforo y otros microorganismos benéficos dentro de la composición de los productos comerciales; lo cual permite contribuir a la aplicabilidad de la tecnología IM a gran escala.
- Entre las técnicas descritas, las más apropiada para el cultivo de café *Coffea arábica* L. es la aplicación en drench, a partir de la utilización de un inóculo a base de polímero (soluble en agua), debido a su eficiencia simbiótica, calidad fitosanitaria y portabilidad tecnológica en etapas de vivero y campo y facilidad de incorporación dentro del manejo agronómico.

4. CONSIDERACIONES FINALES

- Se espera que los aportes presentados en esta investigación, sean transferidos a la comunidad científica y académica, como herramienta tecnológica para el desarrollo de futuras investigaciones para contribuir al mejoramiento de la producción de la caficultura colombiana.
- Propiciar la integración de los IM sin base de suelo (solubles en agua) en las actividades investigativas y productivas, para contribuir a la mitigación de los impactos ambientales, en el marco de una agricultura sostenible.
- Hacer investigaciones encaminadas a conocer y contextualizar técnicas de inoculación micorrícica con las tecnologías disponibles en la actualidad en diferentes cultivos, para favorecer a productores y demás actores del sector agropecuario.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Akiyama, K., Matsuoka, H. & Hayashi, H. (2002). *Isolation and identification of a phosphate deficiency-induced C-glycosyl-flavonoid that stimulates arbuscular mycorrhiza formation in melon roots*. *Molecular Plant Microbe Interaction* 15: 334–340
- Aguado Santacruz, G.A. (2011). *Biofertilización de maíz: práctica redituable, factible y necesaria para la agricultura de nuestro país*. Claridades
- Allen, MF, Swenson, W., Querejeta, JI, Egerton-Warburton, LM and Treseder, KK (2003). Ecology of mycorrhizae: a conceptual frame work for complex interactions among plants and hongos. *Annu. Rev. Phytopathol.* 41: 271–303
- Alvarado Carlo J. Alvarado, Dasgupta Schubert Nabanita, Ambriz Enrique, Sánchez Yáñez Juan M, Villegas Javier (2011). Hongos micorrícicos arbusculares y la fitorremediación de plomo. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 27(4): 357-364
- Andrade, T. A. (2010). Micorriza S. *Antigua interacción entre plantas y hongos*. Disponible en:http://www.academia.edu/653234/Micorrizas_Antigua_interaccion_entre_plantas_y_hongos
- Bainard, L. D., Koch, A. M., Gordon, A. M., & Klironomos, J. N. (2012). *Temporal and compositional differences of arbuscular mycorrhizal fungal communities in conventional monocropping and tree-based intercropping systems*. *Soil Biology and Biochemistry*, 45, 172-180. doi:10.1016/j.soilbio.2011.10.008

Barrer, Silvia E. (2009). *El uso de hongos micorrícicos arbusculares como una alternativa para la agricultura.*, Facultad de ciencias agropecuarias Universidad de Santander Colombia, pg.128

Bolaños Benavides, M. & Sáenz, E. (2009). *Efecto de hongos benéficos sobre la nutrición y sanidad de aguacate*, pg. 2

Bisang Roberto, Campi Mercedes & Cesa Verónica (2009). *Biotecnología y desarrollo Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL)*

Cano c. lynch j. (1990). *Effect of agrochemical on vesicular – arbuscular mycorrhizal fungi* CIAT

Corradi, N., & Bonfante, P. (2012). *The arbuscular mycorrhizal symbiosis: Origin and Evolution of a Beneficial Plant Infection*. PLOS Pathogens, 8(4), e1002600. doi:10.1371/journal.ppat.1002600

Carrenho Rosilane. (2007). *The effect different soil properties on arbuscular mycorrhizal colonization of peanuts, sorghum and maize*. 2007, 3(21), pg.723-730

Castañeda Sánchez Darío Antonio. (2011). Fertilización sintética e inoculación de hongos micorriza arbuscular (HMA) en: *Pennisetum clandestinum* *Revista Politécnica* ISSN 1900-2351, Año 7, Número 13.

Collados Clares Carlos. (2006). Tesis Doctoral. *Impacto de inoculantes basados en azospirillum modificado genéticamente sobre la diversidad y actividad de los hongos de la micorriza arbuscular en rizosfera de trigo y maíz*. Universidad de Granada, Facultad de ciencias, Departamento de Microbiología.

Cooper, K.M. (1984). *Physiology of VA mycorrhizal associations*. En: V.A.

Mycorrhiza, editado por C.I. Powell & d.j. Bagyaraj, CRC Press Inc, Boca Ratón, Florida, pg.155-203

Chisholm S.T., Coaker G., Day B., Staskawicz B.J. (2006). *Host microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response cell*, pg. 124- 803-814.

Da Silva-Junior JP, Siqueira JO. (1997). Aplicação de formononetina sintética ao solo como estimulante da formação de micorriza no milho e na soja. *Rev Bras Fisiol Veg* 9:33-39

Faggioli, Valeria. Inta eea Marcos Juárez. (2012). *Micorrizas en soja: beneficios y manejo de suelos para su conservación*

Finlay R.D. (2008). *Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium*. *Journal of Experimental Botany*, 59:1115-1126.

Fernández, L.; Zalba, P. y Gómez, P. 2005. Bacterias solubilizadoras de fosfato inorgánico [aislada de los suelos de la región sojera. *Ciencia del Suelo*, pg 23: 31-37.

Fortin, JA, Becard, G., Declerck, S., Dalpe, Y., St-Arnaud, M., Coughlan, AP and Piche, Y. (2002). *Arbuscular mycorrhiza on root-organ cultures: A review*. *Puerto. J. Bot.* 80: 1–20

Gaitán B. Álvaro, Villegas G, Clemencia, Rivillas O. Carlos, Hincapié G. Edgar, Arcila P. Jaime. (2011). *Almácigos de café calidad fitosanitaria, manejo y siembra en el campo*. Avance técnico 404, CENICAFE programa de investigación científica Chichina Caldas, pg 4

González Chávez, M.C., A. Alarcón y R Ferrera Cerrato. (2007). *Manual de métodos para la investigación y aplicación de hongos micorrícicos arbusculares en laboratorio y campo*. Estado de México, pg.144

González Chávez. (2004). *Mycorrhizal remediation an enhanced form of phytoremediation*.

Gómez Carabalí, Arnulfo; M. RAO, Idupulapati; Otero, Joel Tupac. (2011). Influencia de la fertilización, la época y la especie forrajera en la presencia. *Acta Agronómica*, [S.l.], v. 60, n. 1, p. 84-92, ISSN 2323-0118

Guerrero Eduardo, Azcón Concepción, Barea José, Moyersoen Bernard, Orozco Cielo, Cano Cesar, Mejía Diego, Mayer Jorge, Rivillas Carlos, Rivera Emma (1996). *Micorrizas recurso biológico del suelo*, editorial, Fondo FEN Colombia, pg. 184-199.

Heidari, M., Karami, V. (2012). *Effects of different mycorrhiza species on grain yield, nutrient uptake and oil content of sunflower under water stress*. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences - King Saud University*. Doi 10.1016/j.jssas.2012.12.002

Isaac. Susan (1992). *Fungal – plant interactions* Editorial Chapman & Hall, pp 143,144 1992

Jayachandran K, Schwab AP, Hetrick BAD (1992) Mineralization of organic phosphorus by vesicular –arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Boil Biochen*

Jiménez Martínez. Arturo. (2013). *Producción de inoculantes micorrícicos de géneros fúngicos arbusculares considerando tamaño de partícula y mezcla de sustratos*. México

Joao José Pedro. (2002). “Efectividad de la inoculación de cepas de HMA en la producción de posturas de cafeto sobre suelo Ferralítico Rojo compactado y Ferralítico Rojo lixiviado de montaña”

Joner EJ.Briones R, Leyval C. (2000). *Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium. plant and soil* Pg. 226:227-234

Kogel, K.H. (2008). *Compatible Host–microbe Interactions: Mechanistic Studies Enabling Future Agronomical Solutions*. Journal of Plant Physiology. 165, pg.1-8

Khaliq A, Bagyaraj.DJ. (2010). *Los avances en la producción en masa*. Tecnología de micorrizas arbusculares.

Krueger. Manuela. (2010). *DNA-based characterization and identification of Glomeromycota*.

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*. J Plant Physiol 159:1329-1339

Massoumou M, van Tuinen D, Chatagnier O, Arnould C, Brechenmacher L, Sánchez L, Selim S, Gianinazzi S, Gianinazzi Pearson V, (2007). *Respuestas Medicago truncatula de genes específicos a interacciones micorrizas arbusculares con diferentes especies y géneros de Glomeromycota*. Mycorrhiza 17: 223-234

Martín, S., Mooney, S., Dickinson, M., & West, H. (2012). *Soil structural responses to alterations in soil microbiota induced by the dilution method and mycorrhizal fungal inoculation*. Pedobiología - International Journal of Soil Biology. Pedobiología 55, pp. 271– 281. Doi:10.1016/j.pedobi.2012.06.001

Martin, Lucy (2009). *Transformaciones agrícolas y experiencias de innovación a escala local*. cultrop vol.30, ISSN 0258-5936

Martín Amos Ana (2011). *“Efectos de la inoculación del hogo de micorrizacion tuber melanosporum y la rizobacteria pseudomonas fluorescens en la calidad de la plántula de pinos Halepensis”*

Marx Donald H. (2013). PHC Technology Seminars. *Mycorrhizae*. Mexico D.F.

Morton JB, Msiska Z. (2010). *Ontogeny and phylogeny of a Scutellospora heterogama mutant, with implications for morphological recognition of species in Glomeromycota*. Fungal Biology 114: 410–420

Osorio José Darío (2000). “Memorias segundo seminario internacional de micorrizas”
Popayán Colombia.

Ordoñez C., Nancy Fiorela; Otero, Joel Tupac; Diez G, María Claudia. (2013). Hongos endófitos de orquídeas y su efecto sobre el crecimiento en *Vanilla planifolia* Andrews. Acta Agronómica, [S.l.], v. 61, n. 3, pp. 282-290, mar. ISSN 2323-0118.

Parniske M. (2008). Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nat Rev Microbiol.* 6: 763-775.

Parniske M. (2004). *Molecular genetics of the arbuscular mycorrhizal symbiosis*. Opinion Plant Biol. 7:414- 421.

Parra, Marisol, Sánchez de Prager, Marina y Sieverding Ewald. (1990). Efecto de micorriza vesículo-arbuscular en café *Coffea arábica* L. variedad Colombia en almacigo Vol. 40 (1. 2) pg. 88-99

Pérez, C. Alexander & Rojas (2011). *Hongos formadores de micorrizas arbusculares: una alternativa biológica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el Caribe colombiano*, facultad de ciencias agropecuarias, Grupo Bioprospección Agropecuaria. Universidad de Sucre.

Ramírez, G.M. & Rodríguez, Alía (2012). Mecanismos de defensa y respuestas de las plantas

- en la interacción micorrízica: una revisión. *Revista Colombiana de Biotecnología*. Vol. XIV No. 1. Pg. 271-284.
- Ramírez Gómez Margarita; Rodríguez Villate Alía. (2010). *Señales de reconocimiento entre plantas y hongos formadores de micorrizas arbusculares*.
- Read. (1999). *The state of the art.en:Mycorrhiza2nd*. (A.Varma y B.Hock,eds).Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pg. 3-34.
- Requena N., Serrano E., Ocon A., Breuninger M. (2007). *Plant signals and fungal perception during arbuscular mycorrhiza establishment*. *Phytochemistry*, 68 pg 33-40.
- Reidinger Stefan. (2012). *Arbuscular mycorrhizal colonization, plant chemistry, and aboveground herbivore on Senecio jacobaea* *Acta Oecologica* 38. pg. 8 -16.
- Rivera, R. y Fernández, K. (2003). *El Manejo eficiente de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: El Caribe*. La Habana: Ediciones INCA, p166. ISBN 959-7023-24-5.
- Sanclemente Reyes, O., Prager Mósquera, M., Sánchez de Prager, M., Miller Gallego, J., Ángel. (2012). *Abonos verdes: Tecnología para el manejo agroecológico de los cultivos*. Agroecología Norteamérica.
- Sánchez de P, M., Prager M, M., Naranjo, R., Sanclemente, O, (2012). *El suelo, su metabolismo, ciclaje de nutrientes y prácticas agroecológicas*. Agroecología Norteamérica.
- Salvioli, A., & Bonfante, P. (2013). *Systems biology and «omics» tools: A cooperation for*

- next-generation mycorrhizal studies*. Plant Science, 203-204, Doi:10.1016/j.plantsci.01.001. pg. 107-114.
- Sieverding E. (1991). *Vesicular Arbuscular Mycorrhizae Management in Tropical Agroecosystems*. Technical Cooperation, Federal Republic of Germany. Eschborn; pg. 271.
- Siddiqui, Z. & Kataoka, R. (2011). *Mycorrhizal Inoculants: Progress in Inoculant Production Technology*. Chapter 18. Department of Botany, Aligarh Muslim University, Uttar Pradesh, India. pg. 489 – 502. Doi 10.1007/978-1-4419-7931-5_18.
- Siqueira, José Oswaldo & Barreto de Novais, Cândido. (2011). *Aplicação de formononetina na colonização e esporulação de fungos micorrícicos em braquiária*. Universidade Federal de Lavras, Departamento de ciencias do solo. Lavras Brasil
- Siqueira José Oswaldo. (2000) “*Memorias segundo seminario internacional de micorrizas*” Popayán Colombia.
- Shubler A. & C Walker. (2010). *The glomeromicota*. A species list with new family and new genera. Gloucester, UK, pg 1-56.
- Smith FA, Grace EJ, Smith SE. (2009). *More than a carbon economy: nutrient trade and ecological sustainability in facultative arbuscular mycorrhizal symbioses*. New Phytologist 182 pg. 347-358.
- Smith, S. E. and Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. 3th edition. Academic Press, New York, USA.
- Thangadurai, D., Busso, Carlos. Alaberto. & Hijri, Mohamed. (2010). *Mycorrhizal biotechnology*. Science Publishers. CRC Press. Taylor & Francis Group an Information

business. ISBN 978-1-57808-691-7.

Turk, MA, Assaf, TA, Hameed, KM and Al-Tawaha, AM (2006). *Significance of mycorrhizae*. World J. Agric. Ciencia. 2 pg. 16–20.

Vassilev, N., Nikolaeva, I. and Vassileva, M. (2005). Polymer based preparation of soil inoculants: Applications to arbuscular mycorrhizal fungi. *Rev. Environ. Ciencia. Biotechnol.* 4 pg. 235–243.

Vodnik, D; Grcman, H; Macek, I; Van Elteren, JT; Kovacevic, M. (2008). *The contribution Of glomalin-related soil protein to Pb and Zn sequestration in polluted soil. science of the total environment.* 392(1) pg.130-136.

Wilde, S. A. & A. Lafond (1967). “Symbiotrophy of Ligno-phytes and Fungi: its terminology and Conceptual Difficulties”, *Bot. Rev.*, 33, 99-104.

Yang, W., Zheng, Y., Gao, C., He, X., Ding, Q., Kim, Y., Guo, L.-D. (2013). *The arbuscular mycorrhizal fungal community response to warming and grazing differs between soil and roots on the Qinghai-Tibetan plateau.* Plos One, 8(9), e76447. doi:10.1371/journal.pone.0076447.

Yao, Q., Wang, L. R., Zhu, H. H., & Chen, J. Z. (2009). *Effect of arbuscular mycorrhizal fungal inoculation on root system architecture of trifoliolate orange (Poncirus trifoliata L. Raf.) seedlings.* Scientia Horticulturae, 121(4), 458-461. doi:10.1016/j.scienta.2009.03.013.

Zaki A. Siddiqui y Ryota Kataoka I. Ahmad et al. (Eds.) (2011). *Progreso en inoculante. Tecnología de la Producción, microbios y Tecnología Microbiana: Aplicaciones Agrícolas y Ambientales*, Doi 10.1007/978-1-4419-7931-5_18.

ANEXOS

Anexo 1. Ensayos de campo de la inoculación micorrízica en cultivos.

Cultivos	Hongos micorrícicos HMA	inoculación	Aumento del crecimiento (control del factor = 1)
trigo	<i>Glomus mosseae</i>	A,C	3
cebada	<i>Glomus caledonium</i>	C	1.3-4
maíz	<i>Glomus mosseae</i>	A	2.3
haba de soja	<i>Gigaspora calospora</i>	A	1-1.5
Alfalfa	<i>Glomus caledonium</i>	C,A	4
trébol	<i>Glomus fasciculatum</i> y <i>G. mosseae</i>	A	1.3
Papa	Población de hongos nativos	B	1.2
naranja	<i>Glomus fasciculatum</i>	D	1.7-4
melocotón	<i>Glomus fasciculatum</i>	C	1.8
Café	<i>Gigaspora margarita</i>	A	3-10
algodón	<i>Glomus macrocarpum</i>	A	1.5
Limón	<i>Glomus mosseae</i>	C	2
Aceite de ricino	<i>Glomus macrocarpum</i>	A	1.6-2.3

Convenciones

Inoculación: (A) la inoculación de plantas antes del trasplante; (B) la inoculación del suelo con el suelo abundante en HMA; (C) IM con base de suelo; (D) la inoculación de la semilla.

Fuente. Isaac (1992)

Anexo 2. Criterios a tener en cuenta para la producción de inoculantes biológicos

Seguridad	Los productos deben tener una baja toxicidad para hombre y los animales. No se observaron efectos adversos en las plantas de cultivo para ser tratada.
Persistencia campo	Debe persistir en condiciones de campo hasta alcanzar un buen nivel de control. Especies deben ser competitivas colonizando rápidamente tomando ventaja con relación a otras especies. (si va a ser utilizado como parte de un programa de control integrado, debe ser resistente a las sustancias químicas utilizadas)
Los criterios ambientales	Organismo debe ser nativos y adaptados a la condiciones ambientales que prevalecen (tipo de suelo, la temperatura, pH, etc). No debe ser manipulada genéticamente.
Estabilidad	La formulación a base de microorganismo debe tener una amplia vida útil en condiciones de almacenamiento. La formulación debe ser de fácil distribución. Se debe conservar la homogeneidad del producto para obtener de forma constante resultado óptimos con el uso del producto. .
Formulación	Debe ser fácil de aplicar a gran escala, sin necesidad especialista o equipo costoso.
Producción	El producto debe tener la capacidad de integrarse en una forma adecuada al manejo agronómico de los cultivos, para su uso a gran escala.
Costo	Debe ser un tratamiento rentable y alternativo para su uso en los cultivos comparado con los sistemas de control químico.

Fuente.Isaac (1992).

Anexo 3. Nivel de toxicidad de los ingredientes activos insecticidas sobre los HMA.

INSECTICIDAS	BAJA	MEDIA	ALTA	DOSIS / Ha
I.A.				
Mococrotophos	-	+	-	500 gr
Bacilius thuringiensis	-	-	-	<i>2 grs/lt agua</i>
Trichlorpón	-	+	-	1 kg
Carbofuran	-	-	+	10 kgs
Methomyl	-	-	-	1 lt
Chlorpyrifos	-	+	-	850 gr
Malathion	-	+	-	1 lt
Metaldehydo	-	-	+	5 Kg
Propargite	+	-	-	2 lt
Carbaryl	-	+	-	2 kgs
Dimethoate	-	+	-	500 gr
Tetradifón	+	-	-	1 kg

Fuente. Cano (1990).

Anexo 4. Nivel de toxicidad de los ingredientes activos fertilizantes obre los HMA.

FERTILIZANTES	BAJA	MEDIA	ALTA	DOSIS / Ha
I.A.				
Bórax	-	+	-	25 kg
Cloruro de Potasio	-	-	-	100 kg
Sulfato de amonio	-	+	-	200 kg
Sulfato de magnesio	-	+	-	50 kg
Sulfato de Zinc	-	-	-	25 kg
Superfosfato	-	+	-	250 kg
Urea	-	+	-	200 kg
10 – 30 10	-	+	-	300 kg
13 – 26 – 6	-	+	-	920 kg
15 – 15 – 15	-	+	-	300 kg

Fuente. Cano (1990)

Anexo 5. Nivel de toxicidad de los ingredientes activos fungicidas sobre los HMA.

FUNGICIDAS	BAJA	MEDIA	ALTA	DOSIS / Ha
I.A.				
Benomyl	-	-	+	720 gr
Captafol	-	+	-	400 gr
Mancozeb	-	-	-	1.5 gr
Oxicloruro de cobre	+	-	-	1 kg
Maneb	+	-	-	600 gr
Captan	-	-	+	600 gr

Carboxin	+	-	-	1 kg
----------	---	---	---	------

Fuente. Cano (1990).

Anexo 6. Nivel de toxicidad de los ingredientes activos herbicidas sobre los HMA.

HERBICIDAS	BAJA	MEDIA	ALTA	DOSIS / Ha
I.A.				
Lnuron	-	-	+	1 kg
Terrazole	+	-	-	200 gr
Fluometurón	-	-	-	3 lts
Metolochlor			+	4 kgs
Fluazfop – butyl	-	+	-	1 kgs
Oxyfluorfen	-	-	+	3.5 lts
Paraquat	-	+	-	4 lts
Diurón	-	-	+	2 kgs
Alachlor	-	-	+	3lts
Pemdimethalin	-	-	-	2 lts
Glyphosate	+	-	-	4 lts

Fuente. Cano (1990)

GLOSARIO DE TÉRMINOS

COLONIZACIÓN MICORRÍZICA: es el establecimiento del hongo micorrízico en la raíz de la planta hospedadora. La presencia de micorrizas en una planta se confirma mediante el recuento de la colonización micorrízica. Esto se lleva a cabo mediante protocolos sencillos de tinción de raíces, y la correcta evaluación de éstas, para lo que se deben tener ciertos conocimientos técnicos.

ESPORA: es una forma de resistencia de los hongos, mediante la que se reproducen (son como semillas) habitualmente de manera sexuada. Están hechas para resistir mucho tiempo y ser aun capaces de germinar, pero por eso mismo suelen ser lentas en desarrollarse y colonizar nuevas plantas.

ESTRÉS DE LAS PLANTAS: aunque parezca raro, las plantas sufren también estrés: estrés hídrico, es decir, sequía o falta de agua estrés salino, es decir, cuando las aguas de riego tienen mucha sal estrés "biótico", que es el producido por los patógenos. Frente a los diversos estreses las plantas tienen métodos de protección en su ayuda colaboran también algunos microorganismos beneficiosos del suelo, entre los que se encuentran las micorrizas.

HIFA: es la forma normal en la que crecen los hongos. Son como hebras muy largas que se extienden y por las que van propagándose. En el caso de hongos del suelo, como son los de las micorrizas, estas "hebras" se forman alrededor de la raíz que han colonizado, extendiéndose como si se formase una tela de araña alrededor de ellas. Las hifas son las que transportan los nutrientes y el agua hasta las plantas, y las que forman los arbusculos (en la raíz) y los arbusculos externos o BAS en el suelo.

INFECCIÓN DE LA RAÍZ O DE LA PLANTA: no debe confundirse con colonización, puesto que la "infección" se suele aplicar a cuando un patógeno del suelo se mete en las raíces y les hace daño.

INOCULACIÓN MICORRÍZICA (IM): es el aporte de los hongos formadores de micorrizas a la raíz. Dependiendo del tipo de inoculante, la inoculación se realiza de diversas maneras.

MICELIO: es el conjunto de hifas que produce un hongo. Las micorrizas tienen dos tipos de micelio: el intrarradical, que es el que vive en el interior de la raíz y el extrarradical, que es el que se extiende en el suelo como una tela de araña.

PROPÁGULOS: son el conjunto de esporas, raíces micorrizadas e hifas que hay en el suelo o en el inoculante micorrízico que añadimos. Se llaman "propágulos" porque de cada uno de ellos se puede "propagar" la micorriza.

SIMBIOSIS: literalmente significa "vida en común". Se aplica a dos organismos que viven juntos y normalmente hace referencia a los casos en que esa convivencia es pacífica y beneficiosa. Las micorrizas son simbiosis entre hongos del suelo y las raíces de las plantas.

VESÍCULA: es una especie de semilla que algunas endomicorrizas forman en el interior de las raíces. Suelen servir para almacenaje de nutrientes para el hongo. Algunas se convierten en esporas.