2020-12-01

Estudio de la micorrizósfera compartida en el agroecosistema Cacao-Acacia en el campus Utopía, Yopal-Casanare

Dolly Rodríguez Robayo
Universidad de La Salle, Bogotá

John Cristhian Fernández Lizarazo
Universidad de La Salle, Bogotá, jofernandez@unisalle.edu.co

Fabián Ricardo Escobar Rueda
Universidad de La Salle, Bogotá

Yenni Carolina Cervantes Cano
Universidad de La Salle, Bogotá

Karen Daniela Cárdenas Daza
Universidad de La Salle, Bogotá

Follow this and additional works at: https://ciencia.lasalle.edu.co/utopia_working_papers

Recommended Citation

Rodríguez Robayo, Dolly; Fernández Lizarazo, John Cristhian; Escobar Rueda, Fabián Ricardo; Cervantes Cano, Yenni Carolina; and Cárdenas Daza, Karen Daniela, "Estudio de la micorrizósfera compartida en el agroecosistema Cacao-Acacia en el campus Utopía, Yopal-Casanare" (2020). *Utopía - Working papers*. 6. https://ciencia.lasalle.edu.co/utopia_working_papers/6

This Documento de trabajo is brought to you for free and open access by the Utopía at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Utopía - Working papers by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

Working Papers
2022

Estudio de la micorrizósfera compartida en el agroecosistema Cacao-Acacia en el campus Utopía Yopal-Casanare

Dolly Rodríguez Robayo¹; John Cristhian Fernández Lizarazo¹, Fabián Ricardo Escobar Rueda²;

Yenni Carolina Cervantes Cano²; Karen Daniela Cárdenas Daza²

RESUMEN

La simbiosis micorrizica arbuscular es una de la simbiosis más antigua y abundante de la naturaleza, se estima que más del 90% de las plantas terrestres forman este tipo de simbiosis con Hongos Formadores de Micorrizas Arbusculares (HFMA) los cuales penetran las células corticales de las raíces de las plantas. Esta simbiosis permite un mejor desarrollo radicular y absorción de agua y de algunos nutrientes esenciales, especialmente el fósforo. En contrapartida, los HFMA reciben carbohidratos que son utilizados para extender sus hifas y ampliar la hifósfera. Como resultado, la simbiosis incrementa el crecimiento de las plantas. Dado que la mayoría de los cultivos forman naturalmente esta asociación, la inoculación de HFMA a cultivos tropicales y sistemas agroforestales se convierte en un potencial para aumentar los rendimientos agrícolas. El presente documento de trabajo presenta los resultados parciales del estudio de la micorrizósfera del agroecosistema Cacao-Acacia en el Campus Utopía de la Universidad de la Salle. Este agroecosistema mostró una actividad micorriza promedio para cacao y acacia del 56% y 52% respectivamente. También se identificaron dos familias de HFMA, estas son Acaulosporaceae y Glomeraceae, los cuales agrupan a los géneros Glomus, Rhizophagus (especie *Rhizophagus irregularis*) y Gigaspora.

Palabras clave: Micorrizas arbusculares, simbiosis, Rhizophagus, Gigaspora, Acaulosporaceae y Glomeraceae

¹ Docente Programa de Ingeniería Agronómica de la Universidad de la Salle

² Estudiante de ingeniería Agronómica. Universidad de la Salle

Working Papers 2022

Study of the shared mycorrhizosphere in the Cacao-Acacia agroecosystem at the Utopia Yopal-Casanare campus

ABSTRACT

The arbuscular mycorrhizal symbiosis is one of the oldest and most abundant symbioses in nature. It is estimated that more than 90% of terrestrial plants form this symbiosis with Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF), which penetrate the cortical cells of plant roots. This symbiosis allows better root development and absorption of water and essential nutrients, especially phosphorus. In return, the HFMA receive carbohydrates that are used to extend their hyphae and expand the hyphosphere. As a result, symbiosis increases plant growth. Since most crops naturally form this association, the inoculation of HFMA to tropical crops and agroforestry systems can potentially increase agricultural yields. This working paper presents the partial results of the study of the microrrhizosphere of the Cacao-Acacia agroecosystem at the Utopía Campus of the Universidad de la Salle. This agroecosystem showed an average mycorrhizal activity for cocoa and acacia of 56% and 52%, respectively. Two families of HFMA were also identified; these are Acaulosporaceae and Glomeraceae, which group the genera *Glomus*, *Rhizophagus* (*Rhizophagus irregularis* species), and *Gigaspora*.

Keywords: Biological control, Phytoseiidae, *Manihot esculenta*, Ecology

INTRODUCCIÓN

Los suelos son un componente fundamental de todo el ecosistema, aportando servicios como producción de alimentos, funciona como filtro e intercambiador de gases, fundamental para el desarrollo de la biota entre otros. Pero existe una gran preocupación a nivel mundial por el acelerado proceso degradativo de los suelos y Colombia no es ajeno a esta situación, así, los procesos de degradación más relevantes son la erosión, el sellamiento de suelos, la contaminación, la pérdida de la materia orgánica, la salinización, la compactación y la desertificación; concentrándose en las regiones Caribe, Andina y Orinoquia y que comienzan a notarse en la Amazonía (ANDI, 2016).

Varios de estos problemas están asociados con la degradación química que desencadena la pérdida de nutrientes y baja la actividad microbiana del suelo, por lo tanto, se produce un desbalance del mismo reduciendo la productividad. Para mitigar un poco el impacto causado por la degradación se han estudiado

Working Papers 2022

ciertos grupos de microorganismos edáficos que participan de manera activa en los ciclos biogeoquímicos, ciclo de nutrientes favoreciendo así la fertilidad de los suelos (Thiele-Bruhn et al., 2020).

Dentro de estos microorganismos habitantes del suelo, los HFMA se destacan por sus funciones ecológicas que resultan en el aumento de la producción de alimentos y utilización más eficiente de los nutrientes del suelo para los cultivos (Ceballos et al., 2013); La micorriza es el tipo de colonización más abundante, caracterizada por penetrar las células corticales y formar arbuscúlos en las raíces de más de 200 familias repartidas en más de 1.000 géneros dentro de la clasificación de las Briofitas, Pteridofitas, Angiosperma Y Gimnosperma (Usuga et al., 2008).

Teniendo en cuenta que los HFMA colonizan aproximadamente el 90 % de las plantas vasculares y que en los sistemas agroforestales (SAF) existe una gran diversidad de especies vegetales, es posible encontrar una alta proporción de asociaciones micorrízicas exitosas (Prieto-Benavides et al., 2012). La importancia de los SAF es que permiten la conservación de estos hongos micorrízicos dado los bajos niveles de perturbación en el suelo; generando así una mayor rentabilidad y sustentabilidad en el sistema productivo.

Los sistemas agroforestales han demostrado su utilidad ecológica y productiva. Estos sistemas además de proporcionar alimento a una población creciente, también disminuye el impacto a los ecosistemas que brindan dichos alimentos (González & Farías, 2016). Se define como un sistema sustentable de manejo de cultivo que tiene como objetivo de aumentar los rendimientos, involucrando cultivos forestales con cultivos de campo (Farrell & Altieri, 1997)

Diferentes investigaciones han demostrado que hay una interacción entre las diferentes plantas a través de HFMA colonizantes; así, los resultados indican el efecto de las micorrizas en el desarrollo de plantas de cacao

Working Papers 2022

(Aguirre et al, 2011; González & Rodríguez, 2004; Márquez & Leblanc, 2013) y de acacia (Schiavo et al., 2010). Esta interacción tiene un potencial para control nutricional, sanitario e hídrico de los SAF. Las micorrizas tienen un efecto sobre las relaciones hídricas del sistema planta-suelo, es decir, estos microorganismos modifican la conductancia estomática, la tasa fotosintética, el potencial hídrico foliar, la eficiencia en el uso de agua y la asimilación de nutrimentos del hospedero (Sánchez et al., 2015, Ceballos et al., 2013).

La complementariedad entre plantas en sistemas agroforestales se ha estudiado bastante, no obstante, este análisis rara vez incluye la rizósfera, siendo en ésta donde se encuentra la mayor interacción simbiótica con HFMA, es por este motivo la importancia del estudio de la micorrizósfera compartida en el agroecosistema Cacao-Acacia establecido en el campus Utopía.

Es común que la clasificación taxonómica de las especies de HFMA se base en las características morfológicas de sus esporas asexuales presentes en la rizosfera, siendo el tamaño, color, forma y estructuras de la pared los principales criterios usados para la delimitación de especies (Bago & Shachar-Hill, 2000). Sin embargo, existen numerosas especies presentes en el suelo sin esporular, o bien pueden presentar diferentes periodos de esporulación, por lo que no se pueden detectar mediante esporas (Gómez et al., 2008).

Las técnicas de biología molecular ha sido una herramienta importante para dar solución a los inconvenientes en la identificación morfológica, entre estas se destaca la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) para amplificar secuencias específicas de ADN de los HFMA. Posteriormente se hace un análisis de los clones para identificar la especie que está colonizando la raíz.

Existen muchas bases de datos de secuencias que han sido creadas por investigadores en todo el mundo (Bidartondo, 2008; Brock et al., 2009; Ryberg et al., 2008), a las que se pueden acceder de forma directa, una de

Working Papers 2022

ellas es UNITE (<https://unite.ut.ee/>) , la cual las clasifica en grupos denominados OTU's (Operational Taxonomic Units), por similitud de secuencias; en el que las secuencias que se encuentran allí debieron pasar unos filtros determinados para lograr que la base de datos sea realmente rigurosa (Nilsson et al., 2018).

Con base a los antecedentes expuestos en esta investigación, se planteó como objetivo estudiar la micorrizósfera compartida en el agroecosistema Cacao-Acacia en búsqueda de la interacción funcional mediada por HFMA.

MATERIALES Y MÉTODOS

A nivel de campo, la investigación se realizó en el SAF acacia-Cacao del Campus Utopía de la Universidad de La Salle; los análisis de raíces se realizaron en laboratorio de Biotecnología en la Universidad de La Salle con la colaboración de la Dra. Martina Janoušková³. Para la identificación molecular las muestras fueron enviadas al Departamento de Micorrizas de la Academia Checa de Ciencias en República Checa. Se recolectaron 20 muestras de raíces y suelos de manera aleatoria en todo el agroecosistema Cacao-Acacia.

Análisis morfológico y colonización micorrízica

En la primera fase se identificaron las esporas de HFMA presentes en el suelo rizosférico del sistema agroforestal cacao-acacia y la colonización de los mismos en las raíces del sistema. Para determinar el porcentaje de colonización micorrízica en estos cultivos, se implementó la metodología de tinción de raíces expuesta por (Phillips & Hayman, 1970), modificando algunos aspectos como temperatura, tiempo y concentración de los reactivos. Para el aislamiento y conteo de esporas de HFMA se utilizó el método de tamizado (tamices de 425, 90 y 25 μm); se tomaron 100 g de suelo (rizosfera) por cada muestra.

³ Dra. Martina Janoušková, Ph.D. Department of Mycorrhizal Symbioses. República Checa

Working Papers 2022

Luego se tomaron los residuos atrapados en el tamiz más pequeño y se depositaron en un Tubo Falcón de 50 ml, al cual se le adicionan 45 ml de una solución al 50 % de sacarosa, centrifugando a durante 10 minutos. Se extrajo el sobrenadante llevándolo al tamiz más fino, donde se lava con abundante agua para retirar el exceso de sacarosa. Las esporas recolectadas se montarán en laminas para su descripción morfológica según el catálogo micorrizas arbusculares de la Amazonia Colombiana.

Análisis molecular

Para la identificación molecular se utilizó el procedimiento de la secuenciación parcial de ITS (internal transcribed spacer) sobre la plataforma Illumina MiSeq. La extracción de ADN se realizó con *DNeasy Plant Mini Kit* (Qiagen™) según indicaciones del fabricante. La amplificación de pequeños fragmentos de ADN por secuenciación fue realizada por PCR (Polymerase Chain Reaction, utilizando el siguiente protocolo:

Tabla 1. Mezclas para reacción PCR

Primer PCR		Segundo PCR	
Ingredient	µl	Ingredient	µl
H ₂ O	14.9	H ₂ O	17.06
10xPCR Blue buffer T059	2.5	10xPCR Blue buffer T059	3
MgCl ₂ (25 mM solution)	2	MgCl ₂ (25 mM)	2.4
dNTP (2 mM solution)	2.5	dNTP (2 mM)	3
Cebador F (10 uM solution) Name: SSUmAF	0.5	Cebador F (5 uM) Name: ITS4 tag	1.2
Cebador R (10 uM solution) Name: LSUmAR	0.5	Cebador R (5 uM) Name: fITS7 tag	1.2
Taq polymerase (5U/ul) TOP-Bio	0.1	Taq polymerase (5U/ul) TOP-Bio	0.14
BSA (20 mg/ml)	1	BSA (20 mg/ml)	1
Extracto de ADN	1	Producto de la primera PCR	1
Volumen de la reacción	25	Volumen de la reacción	30

Nota: Los datos son proporcionados por el Departamento de Micorrizas de la Academia Checa

Working Papers 2022

Las secuencias generadas en este trabajo se alinearon con aquellas de las especies registradas en la Base de datos UNITE

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Análisis morfológico

Se identificaron un total de 9 morfotipos de HFMA en el agroecosistema Cacao-Acacia, pertenecientes a las familias Acaulosporaceae y Glomeraceae (Figura 1). La familia Glomeraceae estuvo representada por seis morfotipos, lo que es acorde con la literatura que la registra como la familia de mayor distribución, según Arcos (2004) citado por Garzón (2015), el género *Glomus* tiene una dominancia cerca del 50% en la composición micorrízica del Trapecio Amazónico, siguiendo al género *Acaulospora*.

Figura 1. Morfotipos encontrados en el SAF. (a-f) familia Glomeraceae; (g-h) familia Acaulosporaceae

Working Papers 2022

Evaluación de la colonización micorrízica

Teniendo en cuenta la complejidad que supone la obtención de ADN fúngico a partir de raíces, se realizó una evaluación del estado de colonización que permitiera garantizar la presencia de estructuras fúngicas dentro de las raíces tanto de cacao como de acacia. Se encontró una actividad micorrízica promedio de 56 % en cacao y 52% en acacia (Figura 2), por debajo a lo registrado por Morales (2008) para cacao bajo un sistema agroforestal.

Figura 2. Porcentajes de colonización encontrados en raíces de cacao y acacia en los diferentes muestreos

Estos resultados pueden deberse a los atributos del suelo que pueden afectar la cantidad de inóculo, entre los que encontramos la disponibilidad de nutrientes en especial el fósforo (Smith & Read, 2008), encontrándose niveles altos (81.75 ppm), que puede generar un impacto negativo como lo reportado por Wigand et al., (1997); por otro lado el suelo presenta una textura Franco-arcillo, lo que puede beneficiar la colonización dado que el contenido de arcillas favorecen las condiciones de humedad en el suelo, permitiendo así mayor colonización (Varma et al., 2017).

Working Papers 2022

Análisis Molecular

En total, se obtuvieron 20 muestras (10 por cada especie), asignando la letra “K” para Cacao y la letra “A” para Acacia; pero no todas generaron unos resultados como son el caso de las muestras K 1,2 y 3; debido a que las muestras se encontraban “sucias” (de color amarillo a marrón); esto pudo deberse a que las raíces tomadas como muestras estaban fisiológicamente muy maduras y contenían muchos metabolitos secundarios.

Las muestras que pudieron ser amplificadas fueron enviadas para la secuenciación, pero de las muestras K 8,9,10 y A 2,3,8,9 y 10 no se lograron obtener suficientes secuencias de HFMA para un correcto análisis de la comunidad. Usualmente se utilizan como mínimo 100 secuencias para los análisis de la comunidad fúngica.

En la tabla 2 se listan las muestras con información sobre la secuenciación, cuántas secuencias se obtuvieron en cada muestra y cuántas de esas secuencias fueron de HFMA.

Tabla 2. Cantidad de secuencias obtenidas para cada una de las muestras. K (Cacao) y A (Acacia)

Muestra	Planta	Total de secuencias	Secuencias pertenecen a HFMA	% de secuencias de HFMA
K-4	cacao	28325	376	1.3
K-5	cacao	31003	443	1.4
K-6	cacao	38788	1051	2.6
K-7	cacao	42770	979	2.2
K-8	cacao	35301	39	0.1
K-9	cacao	40498	6	0.0

Working Papers 2022

K-10	cacao	23734	33	0.1
A-1	acacia	35164	363	1.0
A-2	acacia	15755	44	0.3
A-3	acacia	28564	2	0.0
A-4	acacia	35126	195	0.6
A-5	acacia	24407	134	0.5
A-6	acacia	35164	363	1.0
A-7	acacia	24338	249	1.0
A-8	acacia	26756	92	0.3
A-9	acacia	21996	46	0.2
A-10	acacia	20686	23	0.1

Como se puede observar en la tabla 2, se obtuvo muchas secuencias en cada muestra, pero comparado con el porcentaje que se presenta de secuencia de HFMA es bajo, la mayoría de estas representan otros organismos, principalmente de algunos otros hongos. Teniendo en cuenta el bajo porcentaje de colonización (figura 2), la amplificación no es específica.

A las muestras analizadas se les realizó la asignación taxonómica arrojando como clase Glomeromycetes, la familia más abundante fue la Glomeraceae; los géneros *Glomus*, *Rhizophagus* especie *Rhizophagus irregularis*, *Gigaspora* y dentro de esta la especie *Gigaspora margarita*, *Acaulospora* especies *Acaulospora mellea* y *Acaulospora lacunosa*

Working Papers 2022

CONCLUSIONES

La identificación de los morfotipos es coherente con los identificados previamente para las plantas que componen el agroecosistema bajo estudio y bajo las condiciones tropicales propias de la zona de estudio.

La actividad micorrícica de las plantas del agroecosistema SAF bajo estudio fue menor al reportado en reportes previos bajo condiciones similares de cultivo, probablemente a las condiciones del suelo.

El análisis molecular arrojó unos resultados contradictorios por cuenta del bajo porcentaje de secuencias propias de HFMA lo que pone de relieve la presencia en otros múltiples microorganismos en la rizosfera de las raíces de las plantas de Acacia y Cacao del agroecosistema bajo estudio. A pesar de su bajo porcentaje, la identificación molecular de especies de HFMA fue consistente con los análisis morfológicos llevados a cabo en el mismo agroecosistema.

Working Papers 2022

BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre, J., Moroyoqui, D., Mendoza, A., Cadena, J., Avendaño, C., & Aguirre, C. (2011). Hongo endomicorrízico y bacteria fijadora de nitrógeno inoculadas a *Coffea arabica* en vivero. *Agronomía Mesoamericana*, 22.
- ANDI. (2016). *POLÍTICA PARA LA Gestión Sostenible del Suelo*.
- Bago, B., & Shachar-Hill, Y. (2000). *Carbon Metabolism and Transport in Arbuscular Mycorrhizas*. www.mycorrhiza.ag.utk.edu.
- Bidartondo, M. I. (2008). Preserving Accuracy in GenBank Malaria Eradication in India: A Failure? *Trends Ecol. Evol. PLoS ONE Bioinformatics Trends Genet*, 319(132), 5870. www.sciencemag.org/cgi/
- Brock, P. M., Döring, H., & Bidartondo, M. I. (2009). How to know unknown fungi: The role of a herbarium. *New Phytologist*, 181(3), 719–724. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02703.x>
- Ceballos, I., Ruiz, M., Fernández, C., & Rodríguez, R. (2013). The In Vitro Mass-Produced Model Mycorrhizal Fungus, *Rhizophagus irregularis*, Significantly Increases Yields of the Globally Important Food Security Crop Cassava. *PLoS ONE*, 8(8), 70633. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070633>
- Farrell, J., & Altieri, M. (1997). AGROECOLOGIA Bases científicas para una agricultura sustentable. *Asociación Cubana de Agricultura Orgánica (ACA0)-CLADES, Habana*, 325.
- Garzón, L. P. (2015). Importancia De Las Micorrizas Arbusculares (Ma) Para Un Uso Sostenible Del Suelo En La Amazonia Colombiana. *Luna Azul*, 42, 217–234. <https://doi.org/10.17151/luaz.2016.42.14>
- Gomez, N., Martínez, M., & Carreón, Y. (2008). Las micorrizas arbusculares en la protección vegetal. *Revista Biológicas*, 10(1), 60–70.
- González, G., & Fariás, L. (2016). *Biología y regulación molecular de la micorriza arbuscular• Biology and Molecular Regulation of Arbuscular-Mycorrhizae*.

Working Papers 2022

- González, M., & Rodríguez, Y. (2004). Respuesta de plantas de *Coffea canephora* a la inoculación con hongos micorrizógenos arbusculares durante la fase de aclimatización. *Cultivos. Cultivos Tropicales*, 25(1), 13–16.
- Márquez, E., & Leblanc, H. (2013). Efectos de los hongos formadores de micorrizas arbusculares en el desarrollo de plantas de cacao en vivero. *Escuela de Agricultura de La Región Tropical Húmeda, (EARTH)*, 18.
- 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*). *XI Congreso Ecuatoriano de La Ciencia Del Suelo*, 1–9. <http://www.secsuelo.org/wp-content/uploads/2015/06/2.-Rocio-M.pdf>
- Nilsson, H. R., Larsson, K.-H., Taylor, A., Bengtsson-Palme, J., Jeppesen, T., Schigel, D., Kennedy, P., Picard, K., Glöckner, F., Tedersoo, L., Saar, I., Kojalg, U., & Abarenkov, K. (2018). *The UNITE database for molecular identification of fungi: handling dark taxa and parallel taxonomic classifications*. *Nucleic Acids Research*.
- Phillips, & Hayman. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment to infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc*, 55, 158–161.
- Rica Prieto-Benavides, C., Oswaldo, O., Eulogio, C., Fernando, W., Rafael, F., Agustín, F., & Emilio, P. (2012). *Agronomía Mesoamericana. Agronomía Mesoamericana*, 23(2), 233–239. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43724664002>
- Ryberg, M., Nilsson, H., Kristiansson, E., Töpel, M., Jacobsson, S., & Larsson, E. (2008). *Mining metadata from unidentified ITS sequences in GenBank: A case study in Inocybe (Basidiomycota)*.
- Sánchez, R., Baños, S., Hernández, M., Martínez, Y., Benitez, M., Bharat, V., & Chávez, P. (2015). Simbiosis de micorrizas arbusculares en plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) en condiciones de inundación y secano. *Acta Agronómica*, 64(3), 227–233.
- Schiavo, J. A., Martins, M. A., & Rodrigues, L. A. (2010). Crescimento de mudas de *Acacia mangium*, *Sesbania virgata* e *Eucalyptus camaldulensis*, inoculadas com fungos micorrízicos, em casa-de-vegetação e em

Working Papers 2022

cava-de-extração de argila. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 32(1), 171–178.
<https://doi.org/10.4025/actasciagron.v32i1.7309>

Smith, S., & Read, D. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. Third Edition.
<https://pdf.sciencedirectassets.com/277304/3-s2.0-B9780123705266X50016/3-s2.0-B9780123705266500027/main.pdf?X-Amz-Security-Token=IQoJb3JpZ2luX2VjEBcaCXVzLWVhc3QtMSJGMEQCIEPVmZeDMyexoaWZZI87KH7ngAubYEWe0L%2B9c%2FL56ccpAiAMrFF%2BSDwaWLv%2B8PiYM1PRUAATkCsivv>

Thiele-Bruhn, S., Schloter, M., Wilke, B.-M., Beaudette, L. A., Martin-Laurent, F., Cheviron, N., Mougin, C., & Römcke, J. (2020). *Identification of new microbial functional standards for soil quality assessment*. 6, 17–34. <https://doi.org/10.5194/soil-6-17-2020>

Usuga, C., Castañeda, D., & Franco, A. (2008). Multiplicación de hongos micorriza arbuscular (H.M.A) y efecto de la micorrización en plantas micropropagadas de banano (Musa AAA cv. Gran Enano) (Musaceae). *Revista Facultad Agronomía. UNAL*, 61(1), 4279–4290.

Varma, A., Prasad, R., & Tuteja, N. (2017). Mycorrhiza - Function, Diversity, State of the Art. In *Mycorrhiza - Function, Diversity, State of the Art: Fourth Edition*. https://doi.org/10.1007/978-3-319-53064-2_16

Wigand, C., & Stevenson, J. C. (1997). Facilitation of phosphate assimilation by aquatic mycorrhizae of *Vallisneria americana* Michx. *Hydrobiologia*, 342–343, 35–41. https://doi.org/10.1007/978-94-011-5648-6_4