

EL TIEMPO DE ESTABLECIMIENTO DE PASTURAS Y SU RELACIÓN CON LA MICORRIZA ARBUSCULAR EN PAISAJES DE LOMA Y VEGA

Time of Stablishment of Pastures and Their Relationship with Arbuscular Mycorrhiza in Hilly Terrain and Fertile Valley

RAÚL HERNANDO POSADA ALMANZA¹, M.Sc.,
LUIS ANTONIO FRANCO CASTRO¹, Esp, EDITH MEDINA GIRÓN²
Ingeniera Agroecológica

¹ Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad
de la Amazonía, Ciudad Universitaria, Florencia, Caquetá, Colombia.
raulposada@myxmail.com

² Facultad de Ingeniería Agroecológica, Universidad de la Amazonía,
Ciudad Universitaria, Florencia, Caquetá, Colombia.

Presentado 18 de noviembre de 2005, aceptado 4 de agosto de 2006, correcciones 30 de agosto de 2006.

RESUMEN

El presente trabajo fue realizado para evaluar el efecto del tiempo (0-5 años, 5-10 años y más de 10 años) de establecimiento de pasturas de *Brachiaria* sp. sobre las poblaciones de hongos de micorriza arbuscular (HMA), su distribución de esporas, géneros, longitud de micelio extramatricial, colonización radical por HMA y otros hongos, en sistemas donde previamente existían bosques, en paisajes de loma y vega en Florencia, Caquetá, Colombia. Cualquiera que sea la edad de establecimiento de la pastura, predominan los géneros *Glomus* y *Acaulospora*; el cambio de la cobertura requiere de un periodo de más de diez años para que diferentes especies de HMA puedan recolonizar, adaptarse y diversificarse. En loma, la relación de *Brachiaria* sp. con los HMA disminuye con la edad, especialmente después de diez años; en vega se mantiene media y estable (21-50 %), mientras la colonización radical por hongos diferentes a los HMA se incrementa, mostrando posiblemente un mecanismo de competencia por el espacio radical, o una acción conjunta. Finalmente, el micelio extramatricial y las esporas en loma y vega siguen tendencias variables (incremento, descenso o estabilidad) con la edad.

Palabras clave: *Brachiaria* sp., distribución por edad, hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA), pasturas, loma, vega.

ABSTRACT

The subject of this research was to evaluate the effect of the time of establishment (0-5 years, 5-10 years, and more than 10 years.) of pastures of *Brachiaria* sp. over the

Arbuscular Mycorrhizal Fungal populations (AMF): genus and spore distribution, length of extramatrical mycelia, root colonizations by AMF and septate fungi; the pastures resulting from fragmentation of the tropical rainforest with valley and hilly landscapes at Florencia, Caquetá, Colombia. Whichever the age of pasture, the genera *Glomus* and *Acaulospora* predominate; the change of coverage require more than ten years for different species of MAF to recolonize, adapt and diversify. In hilly terrain, the *Brachiaria* sp-MAF relationship decrease with time, specially after ten years of establishment; in valley landscapes the relationship is medium and homogeneous (21-50%), while the root colonization by septate fungi increased, showing possibly a competitive mechanism by root space or a cooperative activity. Finally, the extramatrical mycelia and spores in any landscape had a variable behavior (increase, decrease or stability) with time.

Key words: *Brachiaria* sp., Age Distribution, Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF), Grass.

INTRODUCCIÓN

En la región amazónica existe una gran biodiversidad; en esta región las relaciones entre los componentes ambientales y edáficos, son las que garantizan el ciclaje de nutrientes y determinan la sostenibilidad en la mayoría de los ecosistemas. Los sistemas intensivos de producción pecuaria introducidos hace más de 100 años han contribuido a alterar el equilibrio ecológico, acelerando el proceso de degradación natural debido a la tala y quema de los bosques húmedos tropicales (deforestación), interrumpiendo el ciclo natural de los nutrientes y generando disminución de la productividad a través del tiempo en los agroecosistemas allí formados (IGAC-INPA, 1993). El proceso destructivo del bosque húmedo tropical, los bajos niveles de fertilidad, el alto contenido de aluminio intercambiable, así como el bajo nivel tecnológico para el manejo de los pastos introducidos y la producción agropecuaria en los frentes de colonización, crean conflicto entre la aptitud del suelo de la Amazonía y su uso actual (Salamanca, 1999). Los hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA), son un importante grupo de microorganismos nativos del suelo que se asocian con cerca del 90% de las plantas sobre la superficie del planeta, casi de cosmopolita distribución, pueden dispersarse a partir de esporas (resistentes a las condiciones adversas), su micelio (el cual se extiende de una planta a otra, pudiéndose expandir a nuevas plantas), o por su presencia en raíces y troncos colonizados en estado de descomposición (Orozco *et al.*, 1986). La importancia práctica de los HMA, como recurso microbiológico de los ecosistemas naturales en el trópico húmedo, es conocido como una alternativa que contribuye a la consolidación de los agroecosistemas de producción sustentable, aportando beneficios como el incremento en la eficiencia de las plantas para la absorción, traslocación y transferencia de nutrientes del suelo, en especial los que se difunden lentamente como P, N, K, Ca y S, también participan en el transporte activo de micronutrientes como Zn, Cu, B y Mo (Chiariello *et al.*, 1982; Jacoben, 1994; Salamanca, 1999; Corredor, 2002). En el desarrollo de la micorriza arbuscular (MA), el inóculo se concentra generalmente en los primeros 20 cm del suelo alcanzando su

concentración más alta en la rizósfera, y se puede ver afectado por factores climáticos y bióticos como el tipo de comunidad vegetal, condiciones fisiológicas de la planta hospedera, interacciones con otros microorganismos del suelo (antagonistas o sinergistas), actividades antrópicas (deforestación, introducción de plantas, sistemas de cultivo, aplicación de agroquímicos, etc.), los cuales causan drásticos desequilibrios físicos al suelo (compactación y erosión por sobrepastoreo del ganado) y van causando una reducción en el potencial del inóculo (Cuenca, 2000). Además según Arcos (2000), el tiempo de permanencia de un suelo como potrero también afecta las poblaciones de HMA. El presente trabajo tiene como objetivo mostrar la relación existente entre la edad de establecimiento de las pasturas luego de la destrucción del bosque y algunos aspectos ecológicos de los HMA en paisajes de vega y lomerío en zonas rurales del municipio de Florencia (Caquetá), aportando al conocimiento de la biodiversidad de las micorrizas nativas y contribuyendo al desarrollo de futuras tecnologías de producción que involucren el aprovechamiento de nuestros recursos biológicos

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en áreas rurales del municipio de Florencia, Caquetá, ubicada en la región del piedemonte amazónico, con temperatura promedio anual de 28 °C, pluviosidad anual de 3.500 mm, altitud de 400 m, evapotranspiración entre 1.200 a 1.500 mm anuales y humedad relativa del 87%, según datos históricos reportados por IGAC-INPA (1993). Los promedios de los datos fisiográficos correspondientes a las zonas de muestreo fueron: altura 302 m, presión atmosférica 980,41 mb (milibares), temperatura 30,3 °C y humedad relativa 62,5%. El paisaje corresponde a relictos de bosque húmedo tropical con alta fragmentación por transformación antrópica, con relieves predominantes de vega y lomerío, suelos bajo uso como pastura y con vegetación predominante de *Brachiaria* sp.

MUESTREO

Los muestreos se realizaron en áreas representativas de suelos de vega y lomerío, bajo establecimiento como pasturas predominantes de *Brachiaria* sp. y con edades a partir del establecimiento entre 1-5 años, 6-10 años y 11 o más años. En un total de 18 fincas se ubicaron 27 sitios, cada uno con un área de 1.000 m²; las muestras se tomaron a una profundidad entre 0-20 cm (horizontes 0 y A), con una distancia al macollo de la planta de 0-10 cm, empleando un tubo de PVC con 3,8 cm de diámetro y 25 cm de longitud. A cada sitio se le realizaron diez muestreos, para un total de 270 muestras de 200 g; las muestras de cada sitio se homogeneizaron, para obtener dos submuestras (20 g de suelo/cada una) para evaluar esporas y micelio, una submuestra de 1 g de raíz para evaluar colonización y una submuestra de 100 g de suelo, para las determinaciones fisicoquímicas. Las variables ambientales fueron evaluadas directamente en campo utilizando un termohigrómetro digital marca KONUS; la altura y la presión con un altímetro-barómetro de campo marca KONUS y la posición geográfica con un GPS marca GARMIN 12 XL. Las muestras etiquetadas en bolsas plásticas se llevaron al laboratorio de microbiología de la Universidad de la Amazonía, allí se separaron las raíces del suelo, donde permanecieron a una temperatura de 4 °C durante la valoración de las variables biológicas y fisico-químicas.

AISLAMIENTO Y CUANTIFICACIÓN DE ESPORAS

Para el aislamiento se utilizó la metodología de Gerdemann y Nicholson (1963), modificado por Sieverding (1983), empleando tamiz de 45, 120 y 500 mm (micras), gradiente de densidad con sacarosa al 50% y centrifugación a 3.500 rpm (revoluciones por minuto) por 180 s; las esporas se cuantificaron en 100 g de suelo.

DETERMINACIÓN DE GÉNEROS

La determinación de géneros se realizó por parte del Instituto Sinchi, departamento del Amazonas. Las esporas fueron cuantificadas y separadas por morfotipos usando parámetros morfológicos como: color, tamaño, forma, características de las paredes, presencia de célula suspensoria, conexión hifal y color (Munsell), en esporas montadas en lactoglicerina, polivinil-lactoglicerol (PVLG) más Meltzer (1:1 v/v).

TINCIÓN DE RAÍCES

Se utilizó la metodología de Philips y Hayman (1970) con modificaciones de Sieverding (1983), empleando como colorante azul de Tripano.

CUANTIFICACIÓN DE LA COLONIZACIÓN DE RAÍCES POR HMA Y OTROS HONGOS

Se realizó utilizando el método de determinación del porcentaje de infección en lámina basado en los trabajos de Aristizábal (2004) y Posada (2001), empleando un total de diez raíces teñidas tomadas al azar por muestra. La colonización se evaluó teniendo en cuenta la presencia de vesículas, arbuscúlos y/o hifas cenocíticas (hifas) típicas de los HMA y micelio diferente al de HMA (otros hongos). Se calculó el porcentaje de colonización en base a la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de colonización (\%)} = \frac{\text{No. de campos con presencia de estructuras} \times 100}{\text{No. total de campos observados}} \quad (1)$$

Cuando se encontró presencia de vesículas o arbuscúlos se asumió la presencia de una hifa que le da origen, aunque se cuantificaron solo cuando se encontraban hifas cenocíticas. Basados en los trabajos de Nicholson y Schenck (1979), se estimó el grado de colonización total en *Brachiaria* sp; usando las siguientes categorías: colonización baja (0-20%), colonización media (20,1-50%) y colonización alta (>50%).

MICELIO EXTRAMATRICAL

Se utilizó la técnica de Herrera *et al.* (1986) en la cual emplea la medición sobre cuatro líneas utilizando un cuadrante de 22 x 22 mm por 0,002 a 0,004 g de suelo seco (dependiendo de la cantidad de materia orgánica encontrada en cada muestra), los resultados se expresan en metros por gramo de suelo.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables analizadas son: micelio extramatricial (m/g), número de esporas (No./100 g de suelo), colonización total (%) y por otros hongos (%); se determinó sus frecuencias individuales y acumuladas tanto para muestras totales como por paisajes. Para el análisis de las variables se empleó análisis de varianza por Kruskal-Wallis

y separación de medias por rangos empleando Tukey ($p < 0,05$), para buscar diferencias en los datos totales y por paisajes (loma y vega) en cada grupo de edad para cada una de las variables empleando el programa SAS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

POBLACIÓN DE HMA DE ACUERDO A LA EDAD DE ESTABLECIMIENTO DE LA PASTURA

Cualquiera que sea la edad de la pastura de *Brachiaria* sp, menos de cinco años, cinco a diez años o más de diez años, predominan los géneros *Glomus* (60%, 66,7% y 55,6%) “coincidente con los experimentos efectuados por Siqueira *et al.* (1990) en suelos ácidos con *Brachiaria* sp.” y *Acaulospora* (20%, 26,7% y 22,2%) respectivamente, mientras *Gigaspora* se encontró únicamente en lotes con edad inferior a cinco años y se pierde con el incremento de la edad de establecimiento, esto debido a que algunas esporas de HMA son tolerantes a condiciones ácidas y de alta concentración de Al (Wang *et al.*, 1985; Wang *et al.*, 1993), siendo así, el tiempo transcurrido desde el establecimiento de una pastura afecta la dinámica de las poblaciones de HMA, su estructura, diversidad y distribución, los cuales están relacionados con la estructura de la comunidad de plantas y la función del ecosistema (Grime *et al.*, 1987; Hartnett *et al.*, 1994; Streitwolf *et al.*, 1997; van Der Heijden y Sanders, 2002). El cambio de la cobertura inicial por pastura de *Brachiaria* sp (cambio de hospederos) conlleva a cambios en las poblaciones de HMA (Tabla 1; Fig. 1), requiriendo de un periodo de más de diez años para que diferentes especies de HMA puedan recolonizar, adaptarse y diversificarse; confirmando lo declarado por Boddington y Dodd (2000), en donde afirman que el tipo de sistema productivo, como la agroforestería o el monocultivo pueden determinar la sostenibilidad del agroecosistema en términos de abundancia de HMA.

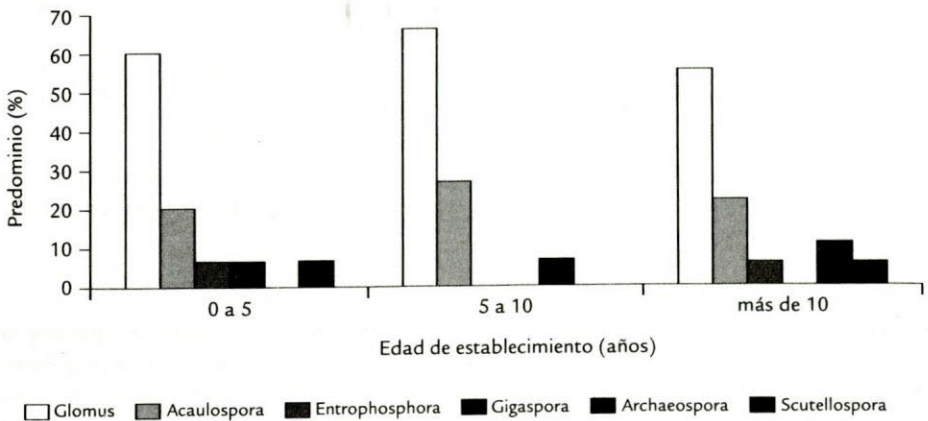


Figura 1: Géneros de HMA predominantes por edad de establecimiento de las pasturas.

COLONIZACIÓN

Sin importar la edad de la pastura, los promedios de colonización de las raíces de *Brachiaria* sp. por HMA ubican a esta planta en una categoría media (20,1–50%), lo

que indica que la planta es micótrofa y su dependencia de los HMA no es alta (Tabla 2), lo cual se ve representado por el 80,4% de las muestras (Tabla 3).

	Edad (años)		
	0-5	5-10	+ de 10
No. géneros	5	3	5
No. especies	15	15	18
Riqueza S-W	1,69	1,16	1,66

Tabla 1. Distribución de géneros y especies de HMA de acuerdo a la edad de establecimiento de las pasturas con *Brachiaria* sp. y riqueza de especies de acuerdo al índice de Shannon-Wiener (S-W).

En los diez primeros años de establecimiento parece haber una mayor relación con los HMA para la toma de nutrientes (38,5-40,6%) en paisaje de loma, con una tendencia hacia la disminución; luego de los diez años los porcentajes de colonización disminuyen (19,7%) posiblemente debido a que las plantas ya no tienen este grado de dependencia de los HMA para lograr mantenerse en el sistema. En vega al haber menos arrastre de los materiales, los requerimientos de HMA para la toma de nutrientes son menores y por ello por porcentajes se mantienen medios (20,1 a 27,7%); este patrón se mantiene sin importar la edad de establecimiento de las pasturas de *Brachiaria* sp. A medida que aumenta la edad de la pastura, la colonización de la raíz por HMA se mantiene estable o se reduce, mientras por hongos diferentes a los HMA se incrementa (Tabla 4), esto muestra posiblemente un mecanismo de competencia por el espacio radical, como ocurre con hongos saprofiticos como *Fusarium oxysporum* y HMA en sorgo (Fracchia et al., 2000) y la reducción de la necesidad de HMA a medida que transcurre el tiempo de establecimiento de las pasturas.

Edad (años)	Procedencia		
	Loma	Vega	Total
0-5	40,6±16,2 b	20,4±11,7 a	31,2±26,8 a
5-10	38,5±24,6 b	20,1±16,0 a	33,0±28,2 a
+ de 10	19,7±13,4 a	27,7±14,9 a	22,7±22,0 a

Tabla 2. Porcentaje (%) de colonización promedio ± DS de raíces de *Brachiaria* sp. por HMA para cada edad de establecimiento en cada tipo de paisaje (loma y vega). Filas con letras diferentes corresponden a promedios diferentes al $p < 0,05$.

ESPORAS DE HMA

Cuando se deforesta una zona para su establecimiento como pastura en paisaje de loma, se encuentran bajos contenidos de esporas en los primeros cinco años; a medida que aumenta la edad se encuentra una tendencia al incremento (53%) del valor promedio de las esporas; tendencia que no se mantiene en vega donde se encuentra homogeneidad (Tabla 5). A medida que se incrementa la edad de establecimiento como pastura con *Brachiaria*, se incrementa la frecuencia de obtención de muestras, parches de distribución agregada (Anderson et al., 1983; Friese y Allen, 1991; Klironomos et al., 1999) con más de 1.500 esporas/100 g (58% 0-5 años; 78% 5-10 años; 88% más de 10 años), lo que coincide con la disminución de los porcentajes de colonización,

ligado al bajo contenido de P y la pérdida de fertilidad en general del suelo. El contenido de esporas en los diez centímetros más cercanos a la raíz es variable (937 a 5.801 esporas/100 g), con promedios de 2.418,4 y 1.829,3 esporas/100 g para loma y vega respectivamente, sin encontrarse diferencias entre las distancias 0-5 ó 5-10 cm del macoyo, lo cual coincide con lo reportado (revisado por Cuenca (2000), acerca de la tendencia de las esporas a agruparse en la zona de la rizósfera de la planta huésped (0-7 cm de la raíz).

Procedencia	Categoría de colonización radical		
	Baja	Media	Alta
Loma	40,7	37,7	21,6
Vega	64,4	19,2	16,3
Total	49,8	30,6	19,6

Tabla 3. Porcentaje (%) de muestras en cada categoría de colonización radical (baja 0-20%, media 20,1-50% y alta > de 50%) por paisaje (loma y vega).

MICELIO EXTRAMATRICAL

El micelio encontrado en loma, sigue una tendencia al descenso (19,2%) en lotes de 5-10 años con respecto a 0-5 años, a promedios de 34,2 m/g (normales para suelos poco fertilizados), con una recuperación del 130,4% luego de diez años, a valores superiores a los obtenidos de 0-5 años (73,1 m/g); al contrario de lo que sucede en vega, donde primero se observa un incremento y luego un descenso a valores inferiores a los obtenidos de 0-5 años (Tabla 6). Cualquiera que sea la edad de establecimiento como pastura y el tipo de paisaje existente, existe una tendencia al incremento (23-85%) de la proporción de muestras con contenidos de 0-25 m/g a 25-100 m/g; esta proporción disminuye para contenidos de más de 100 m/g, siendo en vega nula su presencia, manteniéndose este comportamiento en las edades de establecimiento de las pasturas y los tipos de paisaje; hecho que puede explicar la estabilidad del suelo en este agroecosistema al formar grandes agregados (Miller y Jastrow, 1992; Tisdall, 1991).

Edad (años)	HMA	Otros hongos
0-5	31,2±26,8 a	23,2±19,9 a
5-10	33,0±28,2 a	38,5±27,5 b
+ de 10	22,7±22,0 a	39,7±25,1 b

Tabla 4. Colonización (%) promedio ± DS de las raíces por HMA y otros hongos en pasturas con diferentes edades de establecimiento. Filas con letras diferentes corresponden a promedios diferentes al $p < 0,05$.

Dado lo anterior, podemos mencionar a manera de conclusión que: cualquiera que sea la edad de establecimiento de la pastura, predominan los géneros *Glomus* y *Acaulospora*; mientras *Gigaspora* se pierde con el incremento de la edad de establecimiento. El cambio de la cobertura inicial por pastura de *Brachiaria* sp requiere de un periodo de más de diez años para que diferentes especies de HMA puedan recolonizar, adaptarse y diversificarse.

Procedencia	Edad (años)	Distancia al macoyo (cm)		
		0-5	5-10	Todas
Loma	0-5	1989,6± 692,2 A	1816,1± 661,4 A	1902,8± 675,7 a
	5-10	2319,1± 987,7 A	2559,5±1178,7 A	2439,3±1083,1 b
	+ de 10	2587,5±1204,3 A	3238,7±1392,7 A	2913,1±1329,9 b
Vega	0-5	1695,0±878,5 A	1971,2±1048,4 A	1833,1±967,4 a
	5-10	1580,5±520,2 A	1911,4± 776,2 A	1745,9±665,1 a
	+ de 10	1798,5±713,6 A	1919,1± 514,3 A	1858,8±618,6 a

Tabla 5. Concentración de esporas de HMA (No. esporas/100 g) promedio ± DS, en paisajes de loma y vega en función de la edad de establecimiento de las pasturas con *Brachiaria* sp. Filas con letras minúsculas diferentes corresponden a promedios diferentes al $p < 0,05$. Columnas con letras mayúsculas diferentes, corresponden a promedios diferentes al $p < 0,05$.

En loma la relación de *Brachiaria* sp. con los HMA disminuye con la edad, siendo notorio después de diez años de establecida, en vega se mantiene media y estable, mientras la colonización radical por hongos diferentes a los HMA se incrementa, mostrando posiblemente un mecanismo de competencia por el espacio radical, que *Brachiaria* es más favorecido por la acción de hongos endófitos que por los HMA o que se está realizando una acción conjunta. Al deforestar una zona para establecer pasturas en paisaje de loma, se encuentran bajos contenidos iniciales de esporas con tendencia al incremento (frecuencia de obtención parches con más de 1.500 esporas/100 g) con la edad; tendencia que no se mantiene en vega donde se encuentra homogeneidad.

Edad (años)	Procedencia		
	Loma	Vega	Total
0-5	44,3±29,7 b	45,2±26,2 a	44,8±27,8 a
5-10	34,2±35,6 a	73,8±26,3 b	43,2±30,3 a
+ de 10	73,1±86,6 c	36,7±24,0 a	56,2±67,3 b

Tabla 6. Micelio extramatricial (m/g) promedio ± DS, en paisajes de loma y vega en función de la edad de establecimiento de las pasturas con *Brachiaria* sp. Filas con letras diferentes corresponden a promedios diferentes al $p < 0,05$.

El micelio extramatricial en loma, sigue una tendencia al descenso luego de cinco años, con una recuperación después de diez años, a valores superiores a los obtenidos antes de cinco años; al contrario de lo que sucede en vega. Cualquiera que sea la edad de establecimiento como pastura y el tipo de paisaje existente, hay una tendencia al incremento de la proporción de muestras con contenidos de 25-100 m/g de micelio extramatricial; sin diferencias entre las edades de establecimiento de las pasturas o el tipo de paisaje.

AGRADECIMIENTOS

Deseamos agradecer a Wilson Rodríguez por el acceso al laboratorio de Microbiología; a la Universidad de la Amazonía por la financiación y apoyo a la investigación a través

de la Vicerrectoría de Investigaciones. Agradecemos a Faver Álvarez, Juan Carlos Suárez, Wilson Chacón y Adriana Sánchez por su colaboración en la recolección de datos y muestras.

BIBLIOGRAFÍA

- ANDERSON RC, LIBERTA AE, DICKMAN LA, KATZ AJ. Spatial Variation in Vesicular-Arbuscular Spore Density. *Bull Torrey Bot Club*. 1983;110:519-525.
- ARCOS A. Efecto de la alteración del paisaje sobre los HMA en zonas de colonización amazónica. Conferencia. Encuentro de investigadores en la Amazonía. Leticia. 2000.
- ARISTIZABAL C, RIVERA EL, JANOS DP. Arbuscular Mycorrhizal Fungi Colonize Decomposing Leaves of *Myrica parvifolia*, *M. pubescens* and *Paepalanthus* sp. *Mycorrhiza*. 2004;14(4):221-228.
- BODDINGTON CL, DODD JC. The Effect of Agricultural Practices on the Development of Indigenous Arbuscular Mycorrhizal Fungi I. Field Studies in an Indonesian Ultisol. *Plant Soil*. 2000;218(1-2):137-144.
- CHIARIELLO N, HICKMAN JC, MOONEY HA. Endomycorrhizal Role for Interspecific Transfer of Phosphorus in a Community of Annual Plants. *Science*. 1982;217:941-943.
- CORREDOR G. Manejo sostenible de los agroecosistemas. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Regional 2, editores. Florencia; 2002.
- CUENCA G. Las MA y su papel en la recuperación de áreas degradadas de los trópicos. Encuentro de investigadores en la Amazonía. Leticia; 2000.
- FRACCHIA S, GARCIA-ROMERA I, GODEAS A, OCAMPO JA. Effect of the Saprophytic Fungus *Fusarium oxysporum* on Arbuscular Mycorrhizal Colonization and Growth of Plants in Greenhouse and Field Trials. *Plant Soil*. 2000;223(1-2):175-184.
- FRIESE CF, ALLEN MF. The Spread of VA Mycorrhizal Fungal Hyphae in the Soil; Inoculum Types and External Hyphal Architecture. *Mycologia*. 1991;83(4):409-418.
- GERDEMANN J, NICHOLSON T. Spores of Mycorrhizal Endogone Species Extracted from Soil by Wet Sieving and Decanting. *Trans Brit Mycol Soc*. 1963;46:235-244.
- GRIME JP, MACKAY JM, HILLIER SH, READ DJ. Floristic Diversity in a Model System Using Experimental Microcosms. *Nature*. 1987;328:420-422.
- HARTNETT DC, SAMENUS RJ, FISCHER LE, HETRICK BAD. Plant Demographic Responses to Mycorrhizal Symbiosis in Tallgrass Prairie. *Oecologia*. 1994;99(1-2):21-26.
- HERRERA R, RODRÍGUEZ A, FURRAZOLA E. Método para determinar la biomasa de micelio extramático vesículo-arbuscular. En: Ciclo lectivo sobre el tema: técnicas de investigación en micorriza. Turrialba; 1986. p. 18-28.
- IGAC-INPA. Aspectos ambientales para el ordenamiento territorial del occidente del Departamento de Caquetá., V 2. IGAC-INPA. Bogotá: Editorial Tropembos Colombia; 1993.
- JACOBEN I. Research Approaches to Study the Functioning of Vesicular Arbuscular Mycorrhizas in the Field. *Plant Soil*. 1994;159(1):141-147.

- KLIRONOMOS JN, RILLIG MC, ALLEN MF. Designing Belowground Field Experiments with the Help of Semi-Variance and Power Analyses. *Appl Soil Ecol.* 1999;12(3):227-238.
- MILLER RM, JASTROW JD. The Role of Mycorrhizal Fungi in Soil Conservation. En: Bethlenfalvay GJ, Linderman RG, editors. *Proceedings of a Symposium on Mycorrhizae in Sustainable Agriculture.* Madison, Wisconsin: ASA Special Publication; 1992;54. p. 29-44.
- NICHOLSON TN, SCHENCK NC. *Endogonaceus* Mycorrhizal Endophytes in Florida. *Mycologia.* 1979;71:178-198.
- OROZCO MO, RODRÍGUEZ ME, HERRERA RA, FERRER RL. Micorrizas VA, Micelio Extramatricio y otras poblaciones microbianas asociadas a troncos en descomposición en un bosque tropical. En: *Ciclo lectivo sobre el tema Técnicas de Investigación en Micorriza.* CATIE, IFS, editores. Turrialba: Informe Provisional 1986;18. p. 251-271.
- PHILIPS JM, HAYMAN DS. Improved Procedures for Clearing Roots and Staining Parasitic and Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi for Rapid Assessment of Infection. *Trans Brit Mycol Soc.* 1970;55:158-161.
- POSADA R. Presencia de propágulos de hongos de micorriza arbuscular en muestras de hojarasca de alrededor de dos especies arbóreas en un bosque húmedo tropical. *Acta biol Colomb.* 2001;6(1):47-55.
- SALAMANCA C. La micorriza como estrategia de mejoramiento nutricional de pasturas y especies frutales en el departamento del Guaviare. *Corpoica Regional 8, PRONATTA, editores. Meta: Boletín Técnico* 1999;20. p. 1-24.
- SIEVERDING E. Manual de métodos para la investigación de la micorriza vesículo-arbuscular en el laboratorio. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT); Proyecto Micorriza. Cali. 1983.
- SIQUEIRA JO, ROCHA WF, OLIVEIRA E, COLOZZI-FILHO A. The Relationship Between Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza and Lime: Associated Effects on the Growth and Nutrition of *Brachiaria* Grass. *Biol Fertil Soils.* 1990;10(1):65-71.
- STREITWOLF-ENGEL R, BOLLER T, WIEMKEN A, SANDERS IR. Clonal Growth Traits of Two *Prunella* Species are Determined by Co-occurring Arbuscular Mycorrhizal Fungi from a Calcareous. *Grassland. J Ecol.* 1997;85:181-191.
- TISDALL JM. Fungal Hyphae and Structural Stability of Soil. *Aust J Soil Res.* 1991;29(6):729-743.
- VAN DER HEIJDEN MGA, SANDERS IR. Mycorrhizal Ecology: Synthesis and Perspectives. En: Springer, Berlin and Heidelberg, editors. *Mycorrhizal Ecology.* New York; 2002. p. 441-456.
- WANG GM, STRIBLEY DP, TINKER PB, WALKER C. Soil pH and Vesicular Arbuscular Mycorrhizas. En: Fitter AH, Atkinson D, Read DK, Usher MB, editors. *Ecological Interactions in Soil, Plants, Microbes and Animals.* London: Blackwell Scientific Publishers; 1985. p. 219-224.
- WANG GM, STRIBLEY DP, TINKER PB, WALKER C. Effects of pH on Arbuscular Mycorrhiza. I. Field Observations on the Long-Term Liming Experiments at Rothamstead and Woburn. *New Phytol.* 1993;124(3):465-472.