

Libros de **Cátedra**

Micorrizas arbusculares

Biología y aplicaciones
en el sector agro-forestal

Mario Carlos Nazareno Saparrat, Marcela Fabiana
Ruscitti y Maria Cecilia Arango (coordinadores)

FACULTAD DE
CIENCIAS AGRARIAS
Y FORESTALES

FACULTAD DE
CIENCIAS NATURALES
Y MUSEO

n
naturales


EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

MICORRIZAS ARBUSCULARES

BIOLOGÍA Y APLICACIONES EN EL SECTOR AGRO-FORESTAL

Mario Carlos Nazareno Saparrat

Marcela Fabiana Ruscitti

Maria Cecilia Arango

(coordinadores)

Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales

Facultad de Ciencias Naturales y Museo



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA


EDITORIAL DE LA UNLP

A la Universidad Nacional de La Plata que a través de su Editorial nos ha permitido plasmar este trabajo. A los estudiantes, docentes y directivos de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales y de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la Universidad Nacional de La Plata. A los autores y a todos aquellos que de alguna manera colaboraron en la concreción de esta obra, a través de ideas y sugerencias para mejorarla, o a través de palabras para motivarnos a llevarla adelante. Al Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE), nuestra casa de todos los días, en conmemoración a los 50 años de su creación.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de La Plata que a través de su Editorial nos ha permitido concretar este trabajo. A nuestro querido José Beltrano, ex-Profesor de Fisiología Vegetal, por redactar el prólogo con tanta calidez y originalidad, gracias por su apoyo. A la Dra. Alicia Godeas, investigadora superior ad-honorem CONICET y directora del laboratorio de Microbiología del Suelo Del Depto. de Biodiversidad y Biología Experimental – Facultad de Cs. Exactas y Naturales – UBA, y a la Dra. Marta Cabello, investigadora principal CICPBA en el Instituto Spegazzini (Facultad de Ciencias Naturales y Museo, UNLP) y profesora de Micología de la Fac. Ciencias Naturales y Museo, UNLP, por sus valiosas sugerencias, por ser quienes sembraron el interés en este tema en varios de sus discípulos doctorales formados así como por su apoyo en la conexión con varios de los participantes de este proyecto. A los coordinadores y autores por el esfuerzo realizado y la vocación docente vertida en la confección de esta obra. A la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales y a la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, nuestro ámbito de trabajo, y en especial al INFIVE, donde día a día muchos de los autores llevan adelante sus actividades de docencia, investigación y extensión. A Sofía Miranda Ruscitti por su asistencia en el diseño y organización de las figuras de este libro.

Hay muchos que se van por las ramas, por uno que se va directamente a la raíz.

Henry David Thorea

GREGORIO FERNÁNDEZ-BALAGUER Y JAVIER MOLINA ACEBO. EL PLAN DE VENTAS (5ª ED.), 2011.

Índice

Prólogo	8
Capítulo 1	
Introducción y generalidades	11
<i>Fabricio Emanuel Valdés, Camila Abarca, Roxana Paula Colombo y Vanesa Analía Silvani</i>	
Capítulo 2	
¿Cómo se establece la simbiosis?	36
<i>Marcela Ruscitti y Mario Saparrat</i>	
Capítulo 3	
Hongos rizosféricos y el movimiento del fósforo en el suelo	52
<i>Mario Saparrat, Valeria Bernardo, Marcela Ruscitti, Lorena Elíades y Pedro Balatti</i>	
Capítulo 4	
Micorrizas arbusculares, aplicaciones en el sector agro-forestal	64
<i>Valeria Bernardo, Sebastián Garita, Juan Ignacio Ripodas, Matías Gonzalez, Cecilia Arango y Marcela Ruscitti</i>	
Capítulo 5	
Micorrizas arbusculares y la restauración de ecosistemas degradados	89
<i>Matias Gonzalez, Cecilia Arango, Graciela Pastorino y Marcela Ruscitti</i>	
Capítulo 6	
Tecnología de la inoculación	106
<i>Silvana Velazquez, Fabricio Valdés y Camila Abarca</i>	

Capítulo 7

Técnicas empleadas en el muestreo de hongos micorrícicos arbusculares _____ 115

Valeria Bernardo, Sebastián Garita, Juan Ignacio Rípodas, Cecilia Arango,

Graciela Pastorino y Marcela Ruscitti

Los autores _____ 130

CAPÍTULO 1

Introducción y generalidades

Fabrizio Emanuel Valdés, Camila Abarca, Roxana Paula Colombo y Vanesa Analía Silvani

La vida (...) es también una unión simbiótica y cooperativa, que permite triunfar a los que se asocian.

LYNN MARGULIS, LA VIDA COMO LIBERTAD Y COOPERACIÓN

Toda disciplina científica conserva, en sí misma, un interés que a través de estudios, observaciones y demostraciones, intenta satisfacerse de conocimiento, tratando de explicar o brindar una organización a patrones que se observan en la naturaleza, y se perciben consciente o inconscientemente. Así es como se despierta el interés y se transforma en una ciencia básica.

A lo largo de este capítulo comenzaremos dando una breve introducción, así como los conceptos básicos que entendemos importantes para poder adentrarnos en la temática de los hongos formadores de micorrizas arbusculares (abreviadamente en lo sucesivo como hongos MA). Partiendo desde el entendimiento del concepto de micorriza, su origen y su evolución histórica, hasta los actuales avances en la sistemática, los caracteres por las cuales se identifican y sus principales utilidades que apuntan a las incumbencias en las ciencias aplicadas.

La Simbiosis Micorrícica

Las micorrizas son asociaciones simbióticas que se producen entre ciertos hongos del suelo y las raíces de las plantas. El término micorriza proviene del griego *mykos* (hongo) y *rhiza* (raíz) y fue utilizado por primera vez por Frank (1885) para describir un fenómeno común que observó en las raíces de árboles de los bosques templados de Norteamérica. Estos órganos vegetales se diferenciaban morfológicamente a otras raíces cuando se encontraban asociados a ciertos hongos del suelo. Actualmente, el concepto de micorriza se utiliza de una manera más amplia

para hacer referencia a una gran diversidad de asociaciones de este tipo, incluyendo angiospermas, gimnospermas y pteridofitos que tienen raíces, así como los gametofitos de algunos musgos, licopodios y psilotales, que no poseen raíces verdaderas (Smith y Read, 2008).

En una relación simbiótica dos organismos de especies diferentes viven conjuntamente. Ésta es una definición muy amplia, ya que en la naturaleza las interacciones de este tipo son diversas y pueden clasificarse de acuerdo a distintos criterios. La simbiosis puede ser perjudicial para alguno de los organismos involucrados y beneficiosos para el otro, y en ese caso se denomina simbiosis parasítica o parasitismo. También existen asociaciones que pueden ser beneficiosas para ambas partes, y entonces se trata de una simbiosis mutualista o mutualismo (Bary y Garnsey, 1887). Comúnmente el término “simbiosis” se utiliza para hacer referencia sólo a relaciones de mutuo beneficio entre especies diferentes, de manera opuesta al concepto de parasitismo. Además estas relaciones pueden ser facultativas o temporales, cuando no son imprescindibles y las dos especies pueden vivir tanto juntas como separadas, u obligadas o permanentes, cuando una de las partes (o ambas) es dependiente de la otra y no puede sobrevivir sin su simbiote.

Allen y Allen (1991) definieron a las micorrizas como simbiosis generalmente mutualista que se encuentran en una raíz, o en una estructura similar, en la cual la energía se mueve de la planta al hongo y los recursos inorgánicos del hongo a la planta. Los hongos son seres vivos heterótrofos y, por lo tanto se benefician con los hidratos de carbono sintetizados por la planta. A su vez, éstos toman y transfieren nutrientes del suelo a la raíz (principalmente fósforo y nitrógeno) y le proveen protección contra patógenos y condiciones hídricas desfavorables (Smith y Read, 2008).

Además de mejorar el estado nutricional y el crecimiento de su hospedante vegetal, la simbiosis micorrícica ofrece otros beneficios, entre los que se destacan: la protección ante el ataque de parásitos, hongos patógenos y nemátodos, el aumento de la resistencia a la herbivoría, ya que influyen en la producción de sustancias defensivas por parte de la misma planta, la limitación de la absorción de metales pesados como el zinc y el cadmio, que son retenidos en las hifas del hongo, y el aumento del área de exploración de la raíz, permitiendo incrementar el flujo de agua del suelo a la planta. Además, los hongos contribuyen a mejorar las propiedades físico-químicas del suelo mediante el enriquecimiento de materia orgánica y, en el caso de los hongos MA, estimulan la formación de agregados de partículas mediante el exudado de un grupo de glicoproteínas hidrofóbicas, denominadas glomalina. Esto mejora la estructura y estabilidad del suelo, reduciendo su erosión y aumentando su capacidad de retención de agua (Finlay, 2008).

La formación de micorrizas resulta fundamental para la supervivencia de muchos taxones de plantas en diversos ecosistemas, incluyendo especies de cultivo de interés agronómico (Bethlenfalvay y Linderman, 1992). Esta asociación se presenta en aproximadamente el 90% de las plantas, por lo que se ubica en todos los ecosistemas del mundo. Algunas especies de MA pueden encontrarse en los más variados tipos de suelo y regiones climáticas teniendo una distribución mundial (Read, 1991), por lo que las asociaciones micorrícicas pueden considerarse, en

cierto grado, cosmopolitas y generalistas. Esto es el resultado de un proceso de co-evolución entre hongos y plantas que ha ocurrido de forma convergente en diferentes ambientes y momentos de la historia de la vida en la tierra (García, 2009). Existe evidencia fósil del Ordovícico medio ~475 millones de años (Ma) que demuestra que las primeras plantas terrestres se asociaron con hongos para poder establecerse en suelos pobremente desarrollados (Redecker et al., 2000a; Wellman et al., 2003). Actualmente se considera que los hongos micorrícicos fueron cruciales para que las plantas pudieran colonizar el medio terrestre y responder adecuadamente a las condiciones ambientales cambiantes (Smith y Read, 1997).

En el medio natural, las micorrizas no son simplemente interacciones entre la raíz de una planta y una especie de hongo en particular, sino que constituyen una comunidad compleja formada por diferentes especies fúngicas y los sistemas radiculares. Existen estudios que reportan que la micorriza genera una extensa red de micelio externo que explora el suelo en la búsqueda de recursos e interconecta a las raíces de plantas de la misma especie o de especies diferentes (Simard y Durall, 2004). Esta asociación se define como un continuo “mutualismo-parasitismo”; es decir, se analiza desde una perspectiva de “costo-beneficio”, considerando el desarrollo tanto de las plantas como de los hongos, las condiciones ambientales y edáficas y los factores de reconocimiento genético mutuo (Johnson et al., 1997). En los distintos ecosistemas de la tierra, la selección parece haber favorecido ciertos atributos de las micorrizas y sus simbioses involucrados, dando lugar a una gran diversificación estructural y funcional.

Las Micorrizas y su Clasificación

Las micorrizas se pueden clasificar principalmente mediante ciertas características morfológicas del hongo, como la forma y el tipo de hifas, el nivel de penetración en la raíz o el tejido, así como los taxones involucrados (**Cuadro 1.1**). Podemos reconocer de manera consensuada, dos grandes tipos de micorrizas de acuerdo a la forma de penetración de las hifas en las células de la raíz: ectomicorrizas y endomicorrizas (**Figura 1.1**). Se describen también formas intermedias: las ectendomicorrizas (Frioni, 2006).

Las micorrizas de tipo *arbutoides* son ectendomicorrizas y presentan manto hifal, red de Hartig y una penetración intracelular desarrollada. Dentro de las endomicorrizas se describen diferentes subtipos: *monotropoide*, *ericoide*, *orquideoide* y *micorrizas arbusculares*; en las primeras tres no se observan vesículas ni arbuscúlos, estructuras típicas del subtipo MA.

Cuadro 1.1: Clasificación de los tipos de micorrizas de acuerdo a las características generales de los hongos y las plantas involucradas en la asociación

Tipos de micorrizas	Ectomicorrizas	Ectendomicorrizas		Endomicorrizas			
		Otras	<i>Arbutoide</i>	<i>Monotroipoide</i>	<i>Ericoide</i>	<i>Orquideoide</i>	MA
<i>Hifas</i>	septadas	septadas	septadas	septadas	septadas	septadas	sin septos
<i>Penetración</i>	inter-celular	intra-celular	intra-celular	intra-celular	intra-celular	intra-celular	intra-celular
<i>Manto hifal</i>	presente	presente/ausente	presente	presente	ausente	ausente	ausente
<i>Simbionte fúngico</i>	Basidio/Asco	Basidio/Asco	Basidio	Basidio	Asco	Basidio	Glomero
<i>Simbionte vegetal</i>	Gymno Angio	Gymno Angio	Ericales	Monotroipoideae	Ericales Bryo	Orchidales	Bryo Pterido Gymno Angio

MA: Micorrizas Arbusculares; Basidio: Basidiomycota; Asco: Ascomycota; Glomero: Glomeromycota; Gymno: Gymnosperma; Angio: Angiosperma; Bryo: Bryophyta; Pterido: Pteridophyta. (Smith y Read, 2008).

Ectomicorrizas (ECM)

El carácter distintivo de las ECM es la formación de un manto de hifas alrededor de las raíces absorbentes, lo cual produce una modificación de la morfología de la raíz (Harley y Smith, 1983). Respecto de las hifas y su interacción a nivel ultraestructural dentro de la raíz, no penetran en el interior de las células de la planta hospedadora, sino que crecen únicamente de manera intercelular, pudiéndose analogar con la vía de transporte del agua, es decir, que colonizan el apoplasto radical. De esta manera se puede observar una disposición hifal en las primeras células del tejido radical, llamada “Red de Hartig”. La red de hifas conforma un manto fúngico que rodea las raíces, las células corticales se alargan transversalmente y los pelos suelen estar ausentes o totalmente cubiertos. Este manto hifal puede llegar a representar el 40% del órgano (Frioni, 2006).

Las ECM son formadas por hongos pertenecientes al grupo de los *Basidiomycetes* y varios grupos de plantas de porte arbóreo o arbustivo, tales como las familias *Pinaceae*, *Araucariaceae*, *Cupressaceae*, *Gnetaceae*, *Polygonaceae*, *Nyctaginaceae*, *Myrtaceae*, *Salicaceae*, *Fabaceae*, y los órdenes *Fagales* y *Malvales*. Así también, algunas hepáticas foliosas pueden formar este tipo de asociaciones. Es importante notar que las ECM ocurren en menor porcentaje que las endomicorrizas, dado que tienen un menor rango de hospedantes vegetales y se limitan principalmente a regiones templadas y frías (Wang y Qiu, 2006).

Se estima que más de 6000 especies de hongos formadores de setas son, a su vez, formadores de ECM. Entre algunas especies comestibles podemos nombrar a *Lactarius deliciosus* (niscaló, robellón), *Amanita caesarea* (oronja o huevo de Rey), *Pleurotus ostreatus* (gírgola),

además de otras especies tóxicas y carentes de interés culinario (Martínez y De Aguilar, 2004). También existen especies con diferentes grados de especificidad, es decir que crecen sólo asociadas con ciertas familias, géneros o especies de plantas.

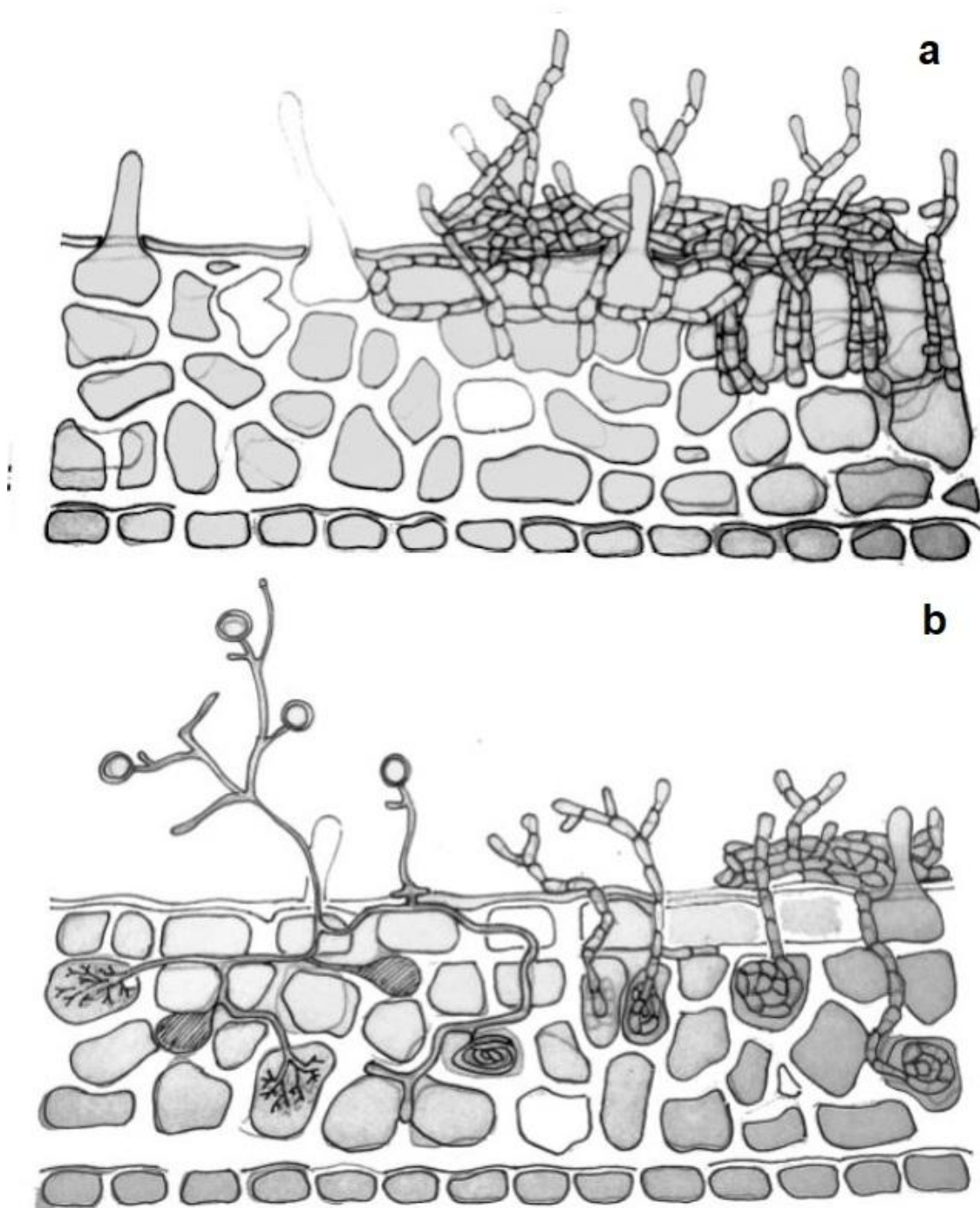


Figura 1.1: Representación esquemática del micelio intercelular en una ectomicorriza (a) e inter-intracelular de una endomicorriza (b).

Endomicorrizas

En las endomicorrizas las hifas de los hongos crecen tanto inter como intracelularmente en la raíz, es decir, por vía apoplástica y simplástica. La presencia de un manto hifal alrededor de las raíces no es una característica propia de este tipo de micorrizas, aunque algunos subtipos de endomicorrizas suelen tenerlo (Harley y Smith, 1983). Dentro de la raíz, el hongo coloniza las células de la corteza, pero no alcanza la endodermis.

El grupo más grande y más frecuente de endomicorrizas es el de las MA, siendo los arbuscúlos, las estructuras típicas de la simbiosis. Los hongos asociados en las MA pertenecen al *Phylum Glomeromycota* (Schüßler et al., 2001; Błaszkowski, 2003), se caracterizan por sus hifas carentes de septos y su biotrofia obligada. Sobre este grupo en particular, es que se hará énfasis a lo largo de este capítulo.

Su temprana aparición en el registro fósil sugiere que esta asociación representa el tipo más ancestral de micorrizas en las plantas terrestres (Strullu-Derrien et al., 2018). Esto explicaría su presencia en la mayoría de las especies vegetales y su amplia distribución cosmopolita, que permite encontrarlas tanto en ambientes naturales como en casi todos los cultivos agrícolas.

A continuación se muestra un cuadro comparativo entre las ECM y las MA según algunas características generales (**Cuadro 1.2**).

Cuadro 1.2: Cuadro comparativo de aspectos generales entre ECM y MA.

ECTOMICORRIZAS	MICORRIZAS ARBUSCULARES
Regiones frías a templadas	Amplia distribución geográfica
Árboles y arbustos	Todos los tipos de vegetación
+ de 6000 especies principalmente <i>Basidiomycota</i>	Cerca de 200 especies de <i>Glomeromycota</i>
Cambia la morfología de la raíz	La morfología de la raíz no cambia
La planta es simbionte obligado	La planta es simbionte facultativo
El hongo es simbionte facultativo	El hongo es simbionte obligado

La Biología de los hongos MA

Los hongos MA (anteriormente conocidos como vesículo-arbusculares) se caracterizan por el desarrollo de hifas inter e intracelulares y estructuras de intercambio denominadas arbuscúlos dentro de las células corticales de la raíz y por la producción de esporas intra y extraradicales. Además algunas especies desarrollan vesículas dentro de las raíces.

Un requisito básico para la manipulación y el manejo de las MA es el conocimiento de su biología, desarrollo simbiótico en los tejidos vegetales, y de su identificación y ocurrencia en el reino vegetal. Para determinar la presencia de MA y eventualmente cuantificarlas es necesario

realizar observaciones microscópicas de las raíces. Las raíces pueden observarse directamente bajo lupa binocular para el reconocimiento de las estructuras fúngicas. Sin embargo, esta metodología requiere de gran experiencia por parte del observador, ya que el micelio de los hongos MA y otras estructuras son generalmente hialinas, dificultando su diferenciación con otros hongos endófitos, saprófitos o parásitos (**Figura 1.2**). Por lo tanto, es habitual utilizar diferentes protocolos de tinción de las raíces para el reconocimiento de estructuras fúngicas como proponen Phillips y Hayman (1970).

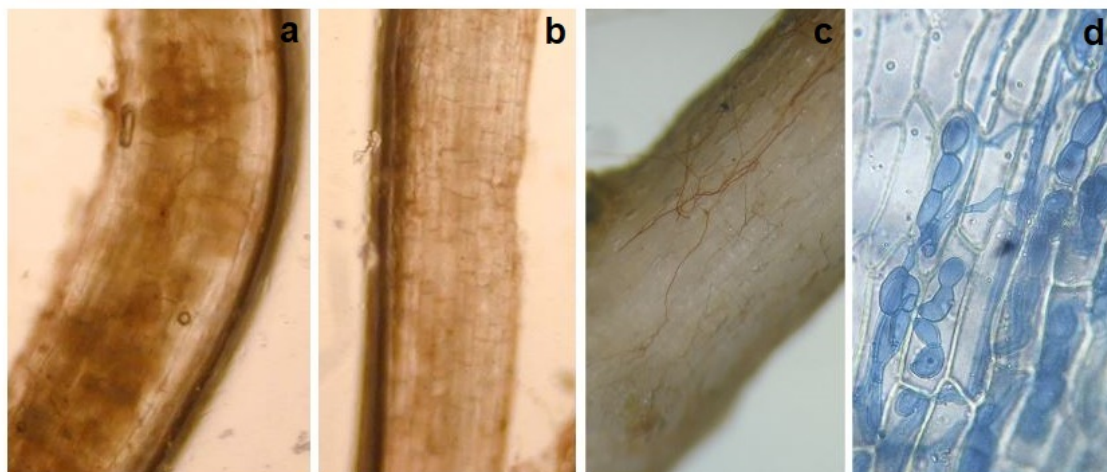


Figura 1.2: Raíz de tomate colonizada por MA (a); raíz de tomate no colonizada (b); raíz de *Paspalum dilatatum* colonizada por otro endofito (c); tejido de Bryophyta (hepática) colonizada por endofitos tabicados (d).

Según Bowen (1987) pueden identificarse diferentes etapas de la simbiosis MA:

a) Pre-Infeción: en el suelo pueden encontrarse tres tipos de propágulos: esporas, hifas o fragmentos de raíces colonizadas. La germinación de los mismos se verá afectada por determinados factores edáficos físico-químicos como: O_2 , CO_2 , temperatura, humedad, pH, fuentes de nutrientes y su disponibilidad, y efectos fungistáticos del suelo, entre otros.

Durante la germinación de las esporas se lleva a cabo la división de núcleos, los cuales oscilan entre 2.000 - 3.000 en cada una, y se distribuyen a lo largo de las hifas germinativas recién formadas (Burggraaf y Beringer, 1987). Si las mismas no entran en contacto con algún hospedante, el potencial de infección del propágulo germinado se pierde en unos pocos días. En cambio, la cercanía de la planta hospedante, desencadena una ruta de señalización entre el hongo MA y la planta que promueven la proliferación de las hifas hacia la raíz. Lo mismo sucede con los restantes tipos de propágulos de MA.

b) Infeción primaria: Los hongos MA pueden infectar una gran variedad de especies de plantas, su compatibilidad es un fenómeno generalizado y no existe una especificidad en el mecanismo de reconocimiento del hongo. Sin embargo, algunas familias de plantas como las *Che-
nopodiaceae*, *Brassicaceae* y *Caryophyllacea* no son micorrizadas.

Una serie de cambios en las células de la raíz permiten que se forme el aparato de pre-penetración (APP) (Genre et al., 2005), el cual es una estructura subcelular que predetermina la senda de crecimiento del hongo a través de la célula de la planta. La formación del APP es precedida por la formación del apresorio que es una hinchazón de la hifa que se adjunta a la epidermis de la planta huésped para iniciar la colonización.

c) Formación de arbusculos y vesículas: Las hifas penetran inter e intracelularmente. El crecimiento está restringido a la epidermis y parénquima cortical, donde se desarrollarán los arbusculos, que constituyen los principales indicadores de una colonización funcional. Los demás componentes radiculares y las partes de plantas clorofílicas no son alcanzados por el hongo.

Los arbusculos son los principales sitios de intercambio de nutrientes entre la planta hospedadora y el hongo (Gianinazzi et al., 1979), se forman dentro de las células corticales poco después de la penetración a la raíz (2 a 5 días). Las hifas finamente ramificadas aumentan el contacto con el lumen celular. Sin embargo, el contacto entre el arbusculo y el citoplasma celular no es directo, sino que se encuentra separado a través de una membrana periarbuscular que deriva de la planta (Parniske, 2008).

La formación de los arbusculos aumenta la actividad metabólica de la célula huésped, lo que se debe principalmente a la transferencia bidireccional de metabolitos y nutrientes. Los arbusculos viven entre 4-15 días (aunque esto varía según la bibliografía), luego se degeneran y son digeridos por la célula huésped. El proceso de formación y degeneración de los arbusculos ocurre simultáneamente en la raíz, y a menudo se observan todas las etapas del ciclo.

Poco después de la formación de los arbusculos, algunas especies de MA forman vesículas intercelulares, ya sea en posición apical o intercalar, cuya función es el almacenamiento de lípidos, fósforo y otros elementos químicos, pero que también pueden actuar como estructuras de propagación vegetativa ya que poseen numerosos núcleos. Las especies de hongos que pertenecen a los géneros *Gigaspora* y *Scutellospora* nunca forman vesículas, sin embargo, producen células auxiliares en el micelio externo.

d) Extensión del hongo en las raíces y en la rizósfera: La extensión del hongo en la raíz se divide en tres fases. (i) La fase inicial durante la cual se produce la infección primaria. (ii) La fase exponencial durante la cual el hongo se propaga inter- e intracelularmente, especialmente en las raíces secundarias finas, de manera que el hongo crece más rápido que la raíz. Las hifas que crecen por fuera de la raíz, penetran la raíz nuevamente a distancias irregulares. La propagación de la infección es interna o en la superficie de la raíz. (iii) La fase meseta durante la cual el crecimiento de la raíz y el hongo son similares. El nivel de infección de la meseta no es constante. Los factores que afectan la tasa de crecimiento relativo de la raíz y el hongo pueden ir cambiando según el equilibrio entre el desarrollo de la raíz y el hongo. Los arbusculos y las vesículas se forman y degradan continuamente durante las fases exponenciales y de meseta.

e) Propagación del hongo a través del suelo: Después de la infección primaria y durante la primera fase de la propagación en la raíz, crecen hifas desde la raíz hacia la rizósfera en el

suelo. Esta parte externa del micelio es el que lleva a cabo la absorción de nutrientes de la solución del suelo y su transporte hacia la raíz. La red de micelio consiste en hifas principales de 5 a 20 μm de diámetro que pueden ramificarse dicotómicamente, e hifas secundarias más finas de 1 a 5 μm de diámetro. Las distintas especies difieren notablemente en la extensión y arquitectura del micelio externo, pero hay que tener en cuenta que el crecimiento del micelio externo puede estar influenciado por diferentes factores bióticos y abióticos del suelo.

f) Formación de estructuras reproductivas: Los hongos MA forman esporas a partir de las hifas del micelio externo. Las esporas son células únicas multinucleadas producidas blásticamente a partir de las hifas esporógenas en posición apical o intercalar. El diámetro de las esporas varía entre las especies de hongos y pueden medir entre 15 a 800 μm . En ciertos casos es posible encontrar la formación de estructuras esporocárpicas.

La formación de esporas puede comenzar muy pronto, entre las primeras 3 a 4 semanas, o demorar hasta 6 meses dependiendo de las especies. La esporulación fúngica es un proceso dinámico, mientras algunas esporas se forman otras están germinando. El micelio fúngico externo e interno en fragmentos de raíces colonizadas, también funciona como una estructura reproductiva de estos hongos, ya que puede germinar e infectar nuevas raíces. Sin embargo, mientras que las esporas pueden sobrevivir hasta varios años en el suelo, la infectividad del micelio fúngico externo, separado de la planta huésped o después de la muerte del huésped, dura solo 2 a 4 semanas. En cambio, los fragmentos de raíces colonizados suelen ser un propágulo infeccioso más viable en el suelo.

Taxonomía, sistemática e identificación de los *Glomeromycota*

Historia de la taxonomía en las micorrizas arbusculares

La taxonomía de los hongos MA comienza en 1844 con las descripciones de las especies *Glomus microcarpus* y *G. macrocarpus* (Tulasne y Tulasne, 1844). Años más tarde, estas especies fueron trasladadas al género *Endogone* por la similitud de sus esporas con las zigasporas de estos últimos (Tulasne y Tulasne, 1851). En 1873, se creó el género *Sclerocystis* agrupando aquellos hongos MA que formaban esporocarpos organizados (Berkeley y Broome, 1873). Así, en 1922 las MA se ubicaban dentro de la familia *Endogonaceae* (Orden *Mucorales*) (Thaxter, 1922), y se comenzó a sugerir que los hongos del género *Endogone* eran los formadores de las 'micorrizas vesículo-arbusculares'. Sin embargo, es Mosse (1953) quien finalmente comprueba que una de las especies de *Endogone* era capaz de formar la simbiosis al inocular esporocarpos en raíces de frutilla creciendo en suelo estéril. Tras este importante hallazgo, se nombró a esa especie como *Endogone mosseae* (= *Glomus mosseae* = *Funneliformis mosseae*), y se confecciona la primera clave para la identificación de las especies *Endogone* (Mosse y Bowen, 1968). Años más tarde, Gerdemann y Trappe (1974) revisaron la familia *Endogonaceae* (*Phylum*

Zygomycota) y reconocieron los siguientes géneros como formadores de MA: *Glomus*, *Sclerocystis*, *Acaulospora*, *Gigaspora* y *Endogone*. Luego, Walker y Sanders (1986) incluirían los géneros *Entrophospora* (Ames y Schneider, 1979) y *Scutellospora*.

En la década de los 80s, los taxónomos Walker (1983) y Morton (1988) realizaron un gran aporte a la taxonomía proponiendo nuevos términos y definiciones a los caracteres morfológicos de las esporas de los hongos MA. En 1990, Morton y Benny agregaron nuevos caracteres de clasificación, como el desarrollo de la espora y el modo de germinación, describiendo detalladamente al orden *Glomales*, que luego pasó a denominarse *Glomerales*, conformado por 3 familias: *Glomeraceae* (*Glomus* y *Sclerocystis*), *Acaulosporaceae* (*Acaulospora* y *Entrophospora*) y *Gigasporaceae* (*Gigaspora* y *Scutellospora*).

A partir de los 90s, las técnicas moleculares comenzaron a ser incluidas en la taxonomía de los hongos MA (Simon et al., 1993; Redecker et al., 2000b). Morton y Redecker (2001) combinaron análisis moleculares, morfológicos y bioquímicos para definir dos nuevas familias a partir del orden *Glomerales* (*Archaeosporaceae* y *Paraglomaceae*). En 1998, una nueva clase es propuesta para los hongos MA (Clase *Glomeromycetes*) dentro del *Phylum Zygomycota* (Cavalier-Smith, 1998). Años más tarde, la demostración de que los hongos MA son un grupo monofilético resulta en la conformación de un nuevo clado con 4 órdenes: *Phylum Glomeromycota* (Schüßler et al., 2001). Desde entonces, numerosos cambios ocurrieron en la taxonomía de las MA, y nuevos órdenes y familias fueron creados (Oehl y Sieverding, 2004; Sieverding y Oehl, 2006; Walker et al., 2007; Schüßler y Walker, 2010; Oehl et al., 2011a,b,c; Goto et al., 2012). Por su parte, Blaszkowski y colaboradores realizaron un importante aporte en la descripción de nuevas especies y géneros (Blaszkowski et al. 2004, 2010, 2015, 2018).

En los últimos años, los avances en el área molecular han permitido una mayor comprensión de las relaciones filogenéticas y han suscitado cambios dentro del sistema de clasificación de estos hongos. En el 2013, se elabora una nueva clasificación del *Phylum Glomeromycota* basada en el análisis consenso de tres regiones ribosomales: la subunidad pequeña (18S), la subunidad grande (28S) y el gen ITS (ITS1-5.8S-ITS2) (Redecker et al. 2013). Bajo esta reconstrucción filogenética, se describieron un total de 9 familias y 18 géneros.

Actualmente, la clasificación de las MA a nivel *Phylum* se encuentra en continuo cambio y debate. Basados en estudios filogenéticos y en la estimación de los tiempos de divergencia, Tedersoo y colaboradores (2018) revalidaron la posición de los hongos MA dentro del *Phylum Glomeromycota*, en lugar del *Phylum Mucoromycota* y *Subphylum Glomeromycotina* propuesto por Spatafora y otros autores (2016). A nivel clase, los *Glomeromycota* se han clasificado como: *Glomeromycetes* (comprendiendo los órdenes *Diversisporales*, *Gigasporales* y *Glomerales*), *Archaeosporomycetes* y *Paraglomeromycetes* (Oehl et al., 2011a).

Los hongos MA pertenecientes a *Glomerales* y *Diversisporales* son capaces de formar vesículas dentro de las raíces de las plantas, mientras que los del orden *Gigasporales* carecen de ellas, aunque forman células auxiliares a partir del micelio extra-radical. Las especies de *Archaeosporomycetes* comprenden familias y géneros bimórficas, y los *Paraglomeromycetes* se

caracterizan por desarrollar esporas glomoides que germinan directamente a través de la pared, y no a partir de su hifa sustentora.

Por lo pronto, la clasificación propuesta por diversos autores es la siguiente:

Phylum Glomeromycota

Subphylum Glomeromycotina

Clase Glomeromycetes

Orden Glomerales

Familia Glomeraceae

Familia Claroideglomeraceae

Orden Diversisporales

Familia Diversisporaceae

Familia Acaulosporaceae

Familia Entrophosporaceae

Familia Pacisporaceae

Orden Gigasporales¹

Familia Gigasporaceae

Familia Scutellosporaceae

Familia Racocetraceae

Familia Dentiscutataceae

Clase Paraglomeromycetes

Orden Paraglomerales

Familia Paraglomeraceae

Clase Archaeosporomycetes

Orden Archaeosporales

Familia Archaeosporaceae

Familia Ambisporaceae

Familia Geosiphonaceae

¹ Al realizar un análisis filogenético exhaustivo usando diferentes regiones del ADN ribosomal, Krüger y colaboradores (2012) eliminaron el orden *Gigasporales*, y lo trasladaron a nivel familia (*Gigasporaceae*) dentro de *Diversisporales*, junto a los géneros *Gigaspora*, *Scutellospora* y *Racocetra*.

Clasificación tradicional de géneros y especies basada en características de la colonización y las esporas

Tradicionalmente, los hongos MA únicamente se diferenciaban entre sí mediante las características de la colonización radical y ciertos caracteres morfológicos de las esporas, tales como su ontogenia y germinación, la conexión hifal, el número y tipo de componentes, la presencia de ornamentaciones, el tamaño y el color, y la reacción al reactivo de Melzer. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, los caracteres moleculares son una herramienta importante en la clasificación actual de las MA.

Para poder estudiar la colonización intraradical de las micorrizas se suelen utilizar diferentes metodologías de coloración de raíces (Vierheilig et al., 2005). Entre ellas, la tinción con azul de Trypan es la técnica más utilizada (Phillips y Hayman, 1970). Cuando se utiliza este colorante, las especies de los géneros *Archaeospora*, *Intraspora*, *Ambispora* y *Paraglomus* se tiñen muy débilmente (Sieverding y Oehl, 2006), mientras que si las especies pertenecen a los órdenes *Glomerales* y *Diversisporales* el tinte azul observado es más oscuro.

Desde hace más de un siglo (Gallaud, 1905) se reporta la existencia de dos morfologías de colonización denominadas *Arum* y *Paris*, según las estructuras intra-radicales formadas por los hongos MA involucradas en el intercambio de nutrientes durante la simbiosis. La colonización tipo *Arum* se caracteriza por la formación de arbuscúlos e hifas intercelulares. La morfología de los arbuscúlos difiere entre géneros. En las especies de *Gigaspora*, los arbuscúlos tienen hifas basales gruesas y ramas hifales que se afinan bruscamente (**Figura 1.3.a**), en cambio, en otros géneros los arbuscúlos tienen hifas basales más estrechas con ramas que se afinan gradualmente (**Figura 1.3.b-c**). Por otro lado, la colonización tipo *Paris* se caracteriza por desarrollar enrollamientos hifales de reducida localización intercelular (**Figura 1.3.d**) (Cuenca, 2015; Blaszkowski, 2012). Anteriormente se pensaba que el tipo de colonización dependía únicamente de la especie de MA (Smith y Smith, 1997), pero hoy se sabe que si bien existe una cierta influencia genética en la formación de uno u otro tipo de estructura (Cavagnaro et al., 2001), también depende de la anatomía radicular (como el tamaño celular y el espacio intercelular) y de la identidad de la planta hospedante (Cuenca, 2015). Actualmente se conoce que los patrones de colonización tipo *Arum* y tipo *Paris* son los dos extremos de un continuo de morfologías intermedias, denominadas enrollamientos arbusculados (**Figura 1.3.e**) (Dickson, 2004).

Determinados géneros de hongos formadores de MA, excepto los pertenecientes al orden *Gigasporales*, pueden formar vesículas dentro de las raíces hospedantes (**Figura 1.3.f**). No todas las especies de MA son capaces de formar vesículas intra-radicales, es por tal motivo que en 1990 se eliminó el término “vesicular” para referirse a la simbiosis como MA (Morton y Benny, 1990).

Otras estructuras típicas de la colonización micorrícica con valor taxonómico a nivel género, son las esporas intraradicales y las células auxiliares. Las especies del género *Rhizophagus*, como *Rhizophagus intraradices*, *R. irregularis* y *R. fasciculatus* suelen formar abundantes esporas en las raíces de sus hospedantes (**Figura 1.3.g**). En cambio, las células auxiliares en el

micelio extraradical indican la presencia de hongos MA de los géneros *Gigaspora* y *Scutellospora*, pudiéndose diferenciar entre géneros según la superficie espinulada y ondulada de las células, respectivamente (**Figura 1.3.h-i**).

Por otro lado, la arquitectura del micelio extraradical, el patrón de esporulación y la dinámica de crecimiento de hongos MA cultivados en asociación a raíces transformadas son caracteres que permiten diferenciar especies, e incluso a nivel intra-específico (Fortin et al., 2002; Silvani et al., 2014) (**Figura 1.4**).

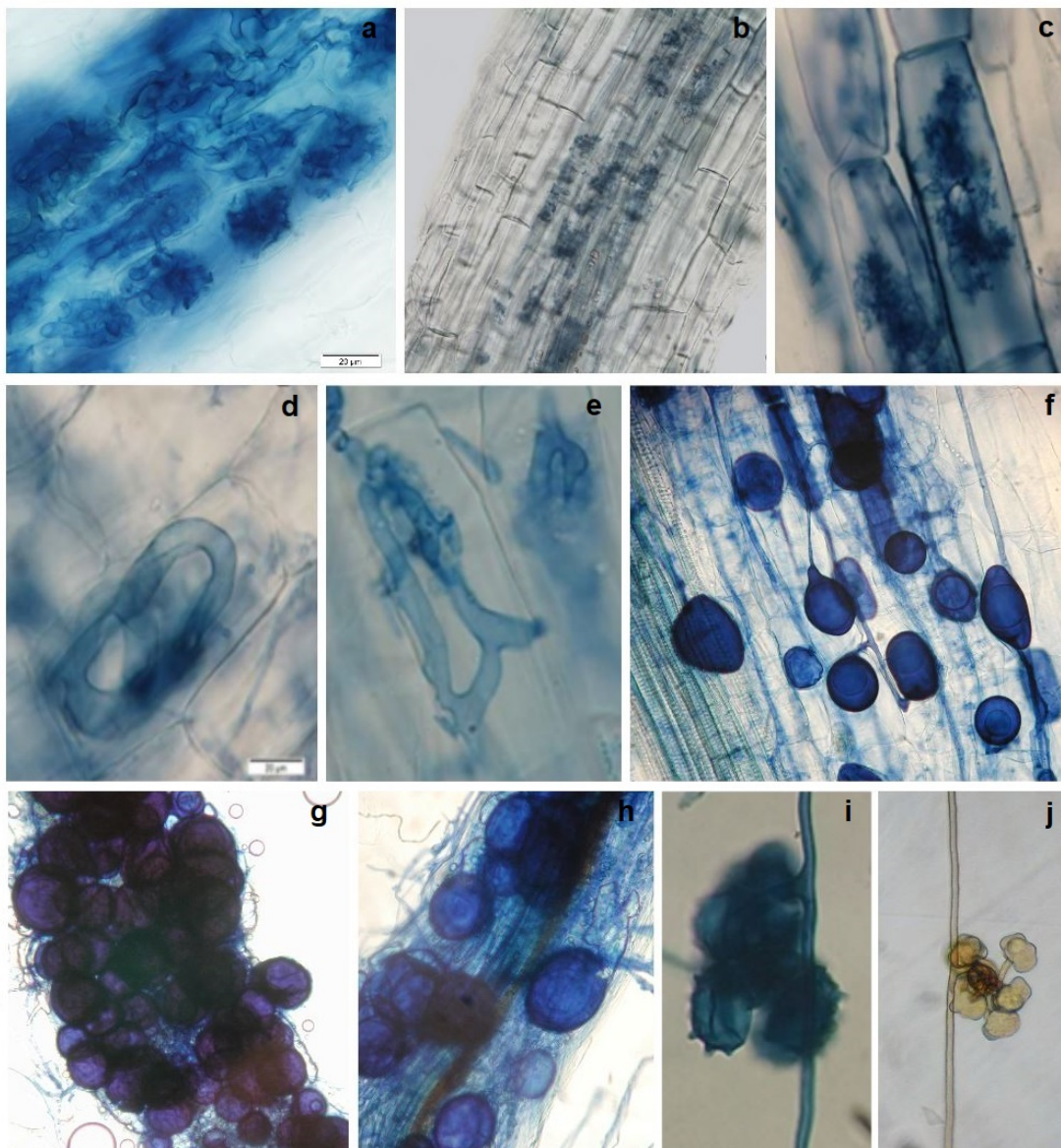


Figura 1.3: (a) Arbúsculos de *Gigaspora rosea*, cepa J1 colonizando, in vitro, raíces transformadas de zanahoria (BGIV); (b). arbúsculos de *Paraglomus* sp. colonizando raíces de *Puccinellia frígida*; arbúsculos (c), enrollamientos hifales (d) y enrollamientos arbusculados (e) en una misma muestra de raíz aislada de suelos de Río Cuarto, Córdoba (Argentina); (f) vesículas de *Rhizophagus* intraradicales cepa GA2 colonizando, in vivo, raíces de tomate (BGIV); esporas intra-radicales de *Rhizophagus* sp. GX11 (g), y GX9 (h); (i) células auxiliares de *Gigaspora* sp. colonizando raíces de maíz; (j) células auxiliares de *Scutellospora* heterogama in vitro (cepa BGIV-IVIC).

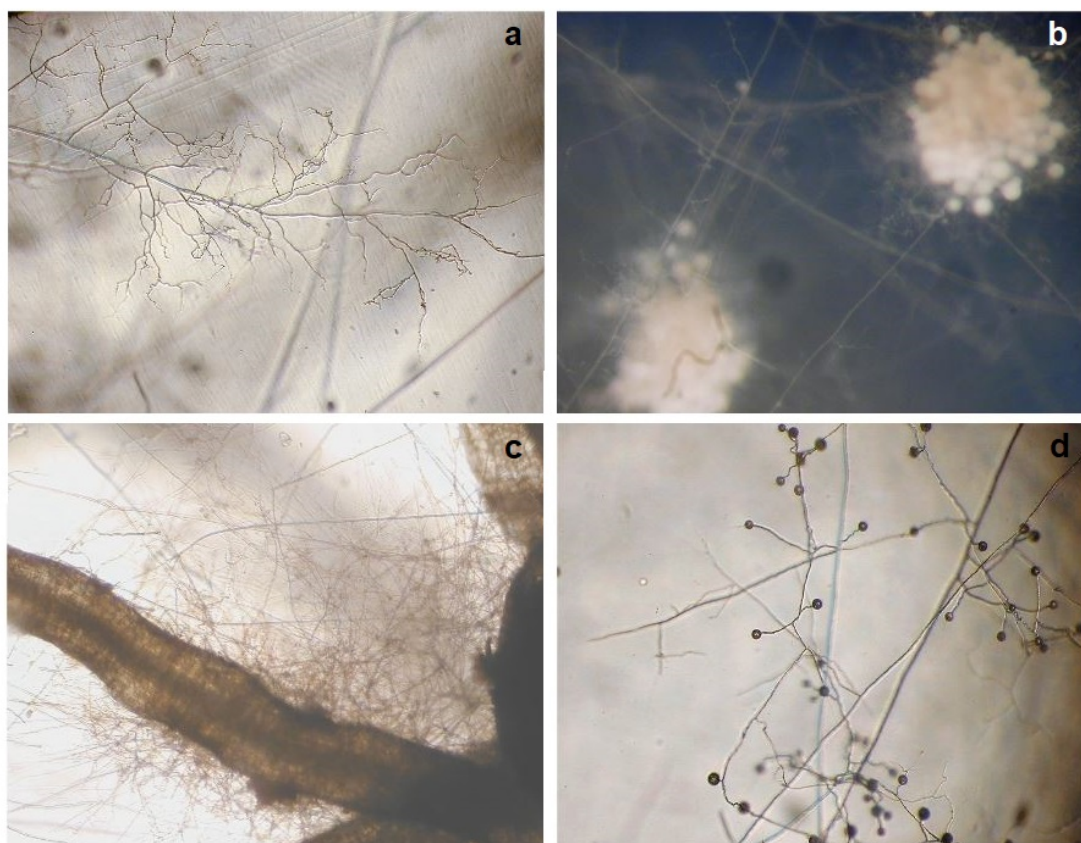


Figura 1.4: Diferentes arquitecturas de micelio extra-radical y patrones de esporulación de hongos MA creciendo in vitro (BGIV) (a) *Rhizophagus fasciculatus* GX5, (b) *Rhizophagus* sp. GB3, (c) *Rhizophagus* sp. GA8, (d) *Rhizophagus* sp. GA4.

1) Número y tipo de componentes de la pared de la espora

Paredes o capas son las diferentes acepciones utilizadas por los autores para referirse a estos componentes de la pared de las esporas de hongos MA de alto valor taxonómico. Los autores que se refieren a las mismas como “paredes” describen meramente la estructura presente (Walker, 1983), mientras que el término “capas” está más relacionado con su naturaleza u origen. La descripción del número y tipo de paredes de una espora es clave para su identificación taxonómica (**Figura 1.5**). A continuación se describen las características generales de los tipos de pared más frecuentemente observados (Walker, 1983, Berch y Koske, 1986, Spain et al., 1989, Brunnett et al., 1996, Cuenca, 2015):

- Componente evanescente: capa única, que suele encontrarse entera, en partes o perderse totalmente a la madurez de la espora. Puede ser mucilaginoso.
- Componente unitario: capa única, rígida.
- Componente laminado: rígida, compuesta por varias capas que se van depositando durante la maduración de la espora.
- Componente membranoso: capa única, muy delgada, flexible e incolora que se arruga o colapsa en alcohol polivinilo- ácido láctico- glicerol (PVLG).

- Componente amorfo: es una capa interior de la espora, incolora, plástica, de tonalidades púrpuras con el reactivo de Melzer.
- Componente germinal (únicamente para el género *Gigaspora*): si bien parece una lámina más de la pared laminada, previamente a la germinación de la espora, produce unas papilas.

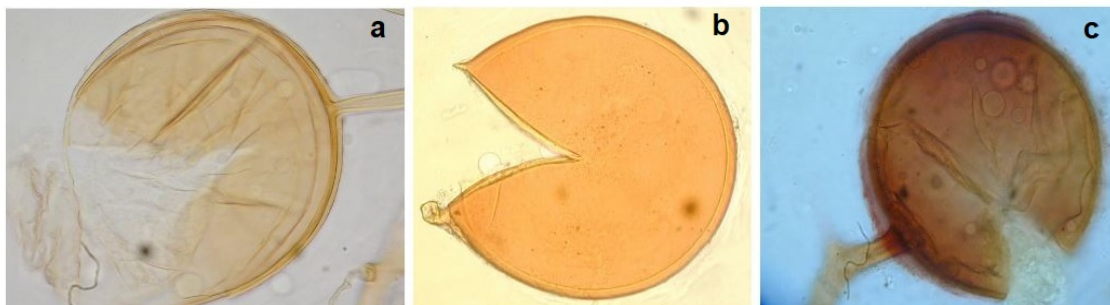


Figura 1.5: (a) Espora rota de *R. intraradices* montada en PVLG, notar el componente de la pared más interno laminado; (b) espora de *Glomus* sp. con pared unitaria; (c) Espora de *Rhizoglyphus* sp. en PVLG más Melzer con un componente evanescente de la pared.

2) Ornamentación de las paredes

Las ornamentaciones pueden encontrarse en los componentes más externos de la pared de las esporas de casi todos los géneros de MA, excepto en *Gigaspora*. Hay muchas ornamentaciones posibles (espinas, papilas, báculos, domos, muros, cavidades, etc.), pudiendo presentar más de un tipo por especie (**Figura 1.6**).

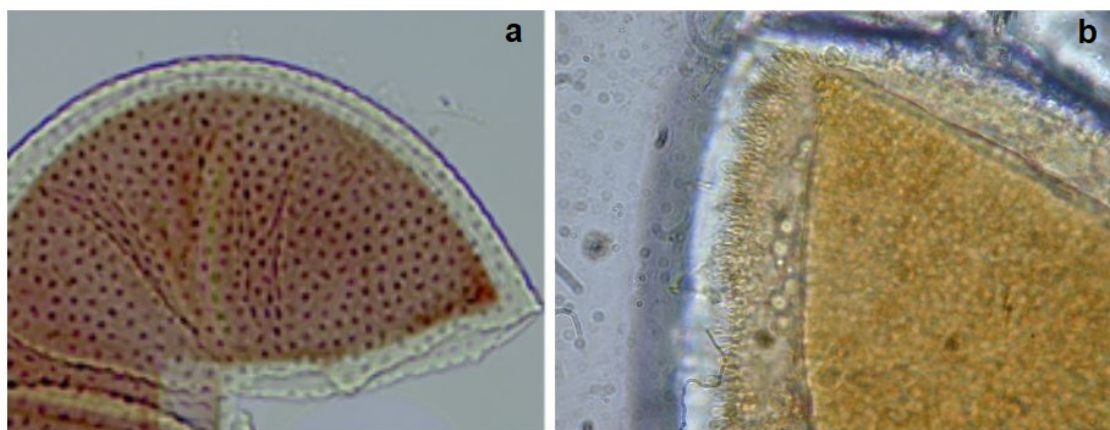


Figura 1.6: Tipos de ornamentaciones en las paredes de las esporas: (a) depresiones cóncavas de *Acaulospora scrobiculata*; (b) espinas de *Entrophospora infrequens*.

3) Conexión hifal y ontogenia de las esporas

La conexión hifal de las esporas está directamente relacionada con su ontogenia. Las esporas pueden ser sésiles (sin conexión hifal visible); éstas se forman a partir de un sáculo esporógeno, como es el caso del género *Acaulospora*, *Archaeospora* y *Entrophospora* (**Figura 1.7.a**) o a

través de un pedicelo formado al extremo de un sáculo esporífero (*Ambispora*). En caso de presentar hifa sustentora o conexión hifal, las mismas pueden presentar morfologías variables. Cuando la espora se forma sobre un suspensor bulboso se dice que la conexión hifal es bulbosa (*Gigasporaceae*) (**Figura 1.7.b**), si en cambio se forma en el extremo terminal de una hifa, de mayor o menor grosor, la conexión con la espora será recta (*Diversispora*, *Glomus*, *Rhizophagus*, *Paraglomus*, etc) (**Figura 1.7.c**). Las esporas pueden formarse también, ordenadamente, alrededor de un plexo central formando esporocarpos (*Sclerocystis*) (**Figura 1.7.d**).

A su vez, muchas especies, particularmente del orden *Glomerales*, forman esporas a partir de ramificaciones hifales simples (**Figura 1.7.e**) o en estructuras hifales ramificadas llamadas en inglés *Branched absorbing structures* “BAS” (**Figura 1.7.f**) en una posición terminal o intercalar de la hifa.

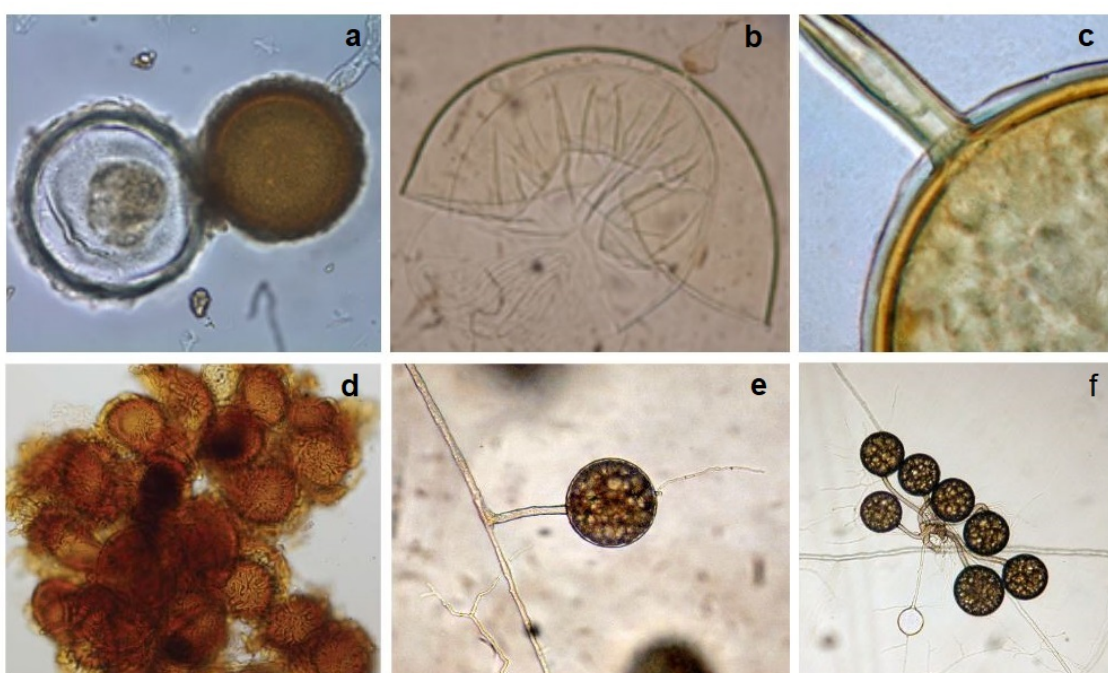


Figura 1.7: Formación de esporas: (a) en *E. infrequens* a partir de un sáculo esporífero; (b) en *Scutellospora pellucida* a partir de un suspensor bulboso; (c) en *R. intraradices* cepa GB2 (BGIV); (d) en *Sclerocystis sinuosa* a partir de un plexo central; (e) en *R. intraradices* cepa GB2 formada a partir de una ramificación simple; (f) en *R. fasciculatus* cepa GX8 formadas a partir de una “BAS”.

4) Germinación de las esporas

La germinación de la espora se da a través de la formación de un tubo germinativo, el cual puede emerger de diferentes maneras (Cuenca, 2015): desde el lumen de la hifa soporte o directamente de la pared de la hifa (*Glomerales*) (**Figura 1.8.a**), a partir de una estructura especializada frágil con forma espiral (*Acaulospora* y *Pacispora*), desde una pared germinal en la espora (*Gigaspora*) (**Figura 1.8.b**) o a partir de escudos germinativos (*Scutellospora* y *Racocestra*) (**Figura 1.8.c**).



Figura 1.8: Germinación de esporas de hongos MA a partir de: (a) el lumen de la hifa de la espora de *Claroideoglopus etunicatum*; (b) desde la pared germinal de *Gigaspora gigantea*, cepa JX1 (BGIV) (foto cortesía de la Lic. Pégola Mariana FCEyN-UBA); (c) un escudo de germinación de *S. heterogama*.

5) Reacción en Melzer

En algunos casos, uno o más componentes de la pared de las esporas reaccionan al reactivo de Melzer tomando coloraciones rojizas o moradas. Sin embargo, este cambio de coloración varía con la madurez o la viabilidad de las esporas (**Figura 1.9**).

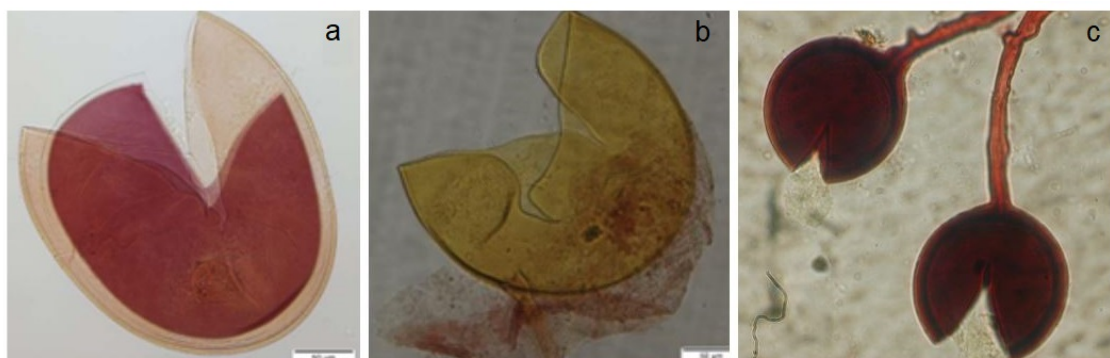


Figura 1.9: Coloración de las paredes de *S. pellucida* (a), *F. mosseae* (b) y (c) *R. fasciculatus* en presencia del reactivo de Melzer.

6) Tamaño, forma y color

Para determinar el tamaño, forma y color de las esporas es necesario evaluar numerosos individuos de forma tal de observar todo el rango posible de valores. El tamaño de las esporas puede variar entre 30 y 500 μm y suele medirse en microscopio con ocular micrométrico teniendo en cuenta el largo y el ancho de las esporas, aún más en aquellos casos en que la forma sea irregular. Las formas que suelen observarse suelen ser globosas, o subglobosas, elipsoidales o irregulares.

El color de las esporas se determina en agua comparando con alguna carta de colores publicada, como la carta Munsell (1905), para eliminar subjetividades. Los mismos pueden variar en una gama entre hialina y marrón oscuro (casi negro). Siempre se observa el color en agua. Hay que tener en cuenta, que tanto tamaño como color, en algunas especies, suelen variar ampliamente según los estados madurativos de la espora (**Figura 1.10**).



Figura 1.10: Conjunto de esporas de hongos MA aisladas a partir de 50 g de suelo de la Pampa Ondulada, mediante la técnica de tamizado húmedo y decantación.

¿Qué se sabe de la genética de los hongos MA?

Pese a la importancia de los hongos MA, aún se desconoce o se encuentra en debate gran parte de su genética, como el nivel de ploidía y el número de cromosomas, la incidencia de la meiosis, los mecanismos de intercambio genético, la existencia de recombinación o segregación genética. Este escaso conocimiento podría deberse a que gran parte de las investigaciones se realizan sobre los grupos *Ascomycota* y *Basidiomycota*. Y por otro lado, el carácter de simbionte obligado de las MA complica la obtención de material genético puro y en abundancia, así como la presencia de endobacterias y virus en los propágulos de algunas especies (Turina et al., 2018). A su vez, el tiempo entre generaciones suele ser muy largo en comparación a otras familias de hongos, dificultando los experimentos genéticos de varias generaciones. Por último, la aparente ausencia de meiosis no permite experimentos de tipo mendelianos, tan ampliamente utilizados para realizar estudios genéticos. Tampoco se han logrado con éxito transformaciones genéticas a causa de sus múltiples núcleos y diversidad de genes.

El concepto biológico de “especie” no es totalmente apropiado para los hongos MA ya que no hay reproducción sexual probada. La asexualidad conlleva a una evolución de individuos genéticamente distantes (ya que no sucede un entrecruzamiento unificador), derivado en jerarquías genealógicas más complejas, tales como especies fisiológicas o ecotipos. Actualmente existen numerosas teorías que intentan explicar la inusual longevidad evolutiva del *Phylum Glomeromycota* con una reproducción asexual sin acumulación de mutaciones perjudiciales que los condujera a la extinción. La hipótesis heteriocariótica, la posible existencia de eventos de apareamiento convencional de núcleos, el intercambio de núcleos por anastomosis de las hifas, la larga historia de coevolución con sus hospedantes vegetales, son algunas de ellas (Corradi y Brachmann, 2017).

Existen aproximadamente 230 especies fenéticas descritas, pero se cree que el número de especies debería ser mucho mayor al comparar el número de especies filogenéticas (o unidades evolutivas). La dificultad para obtener cultivos puros de la gran mayoría de las especies de MA y la escasez de caracteres morfológicos es lo que limita su correcta identificación. Como consecuencia de todo esto, hoy en día existen pocos estudios filogenéticos con base morfológica, mientras que los estudios filogenéticos con base molecular están en pleno auge, sin embargo, la elevada diversidad intraespecífica complica el hallazgo de marcadores moleculares que permitan una identificación inequívoca de las “especies”. Los genes más utilizados para filogenia son los genes nucleares que codifican para ARN ribosómicos (ARNr). Existen tres subunidades codificantes en el ARN ribosomal: 18S (Subunidad pequeña: SSU), 5.8S y 28S (Subunidad grande: LSU). Las secuencias no codificantes que se encuentran entre las tres subunidades, son conocidas como espaciadores internos de transcripción o regiones ITS (en inglés *internal transcribed spacer*). Si bien estas regiones ITS son de gran importancia filogenética para otros grupos de hongos, en el caso de los miembros de *Glomeromycota*, no siempre logran distinguir variaciones intraespecíficas. Se considera que para lograr una separación filogenética eficiente de los taxones se requieren secuencias de al menos 1500pb.

En resumidas cuentas, ¿Qué es lo que sí se sabe sobre la genética de los hongos MA? Los hongos *Glomeromycota* son organismos multinucleados, capaces de formar esporas unicelulares con decenas a miles de núcleos en su interior. La cantidad de ADN por núcleo (medido por fluorometría) es muy variable a nivel de género y mucho más abundante que en otros hongos (Gianninazzi-Pearson et al., 2001). El estudio del genoma de dos especies indicó que son más grandes que los de otros hongos, y codifican para más de 28000 proteínas en el caso *Rhizophagus irregularis* (Hijiri y Sanders, 2004 y 2005, Turina et al., 2018). El número de cromosomas se estudió en una sola especie (*R. intraradices*) y se determinó que al menos son cuatro (Hijiri et al., 2007).

La variabilidad genética, basándose en genes ribosomales, es muy alta tanto a nivel intraespecífico (individuos de la misma especie), como intra-individuo (esporas de un mismo individuo), e intra-celular (núcleos de una misma espora). Se comprobó que la anastomosis e intercambio de núcleos entre individuos de la misma cepa y de cepas diferentes de la misma especie

aisladas de un mismo sitio, son de importancia para el manteniendo de la variabilidad y diversidad genética en estos organismos clonales (Giovanetti et al., 2004, Croll et al., 2009).

El análisis de los genomas de 9 especies demostró una alta repetición de las secuencias a lo largo de la cadena de ADN, un contenido relativamente bajo de las bases guanina y citosina (35 %) y altos niveles de metilcitosina (Lanfranco y Young, 2012; Boon et al., 2015). Finalmente, en los últimos años se han estudiado con mayor profundidad los mecanismos moleculares involucrados en el establecimiento exitoso de la micorrización, particularmente en relación a la señalización molecular entre huésped y hospedante y la existencia de genes y rutas de señalización específicos de la simbiosis, compartidos con otros microorganismos como rizobios (Parniske, 2008, Luginbuehl y Oldroyd, 2017), siendo este apartado desarrollado ampliamente en el Capítulo 2.

Líneas de investigación actuales

Las principales líneas de investigación sobre micorrizas arbusculares que se desarrollan actualmente presentan los siguientes enfoques:

- a) Agronomía: promoción del crecimiento en plantas de importancia económica, alimentaria y cultural;
- b) Ecología: dinámica de las comunidades fúngicas, su importancia en la estructura dinámica de las comunidades vegetales y ecosistemas;
- c) Taxonomía y Sistemática: inventario de la diversidad de hongos MA y especificidad que pudiera haber con determinadas especies vegetales;
- d) Biología Molecular: herramienta para el conocimiento de la sistemática y la ecología de los hongos MA y la determinación de sus relaciones filogenéticas;
- e) Fisiología de la simbiosis: factores de señalización entre el hongo y la planta, mecanismos de captación y traslocación de los nutrientes;
- f) Biotecnología: manejo de las cepas fúngicas para uso en agronomía y en la restauración de ecosistemas naturales;
- g) Ciencias Ambientales: biorremediación, restauración, rehabilitación o reasignación de ecosistemas deteriorados.

Referencias

Allen, M. F., y Allen, M. F. (1991). *The ecology of mycorrhizae*. Cambridge University Press.

- Ames, R. N., y Schneider, R. W. (1979). *Entrophospora*, a new genus in the *Endogonaceae* (Fungi). *Mycotaxon*, 68, 165–184.
- Bary, A., y Garnsey, H. E. F. (1887). Comparative morphology and biology of the fungi, mycetozoa and bacteria (Vol. 2). *Clarendon Press*, 358-366.
- Berch, W. N. y Koske, R. E. (1986). *Glomus pansihalos* a new species in the *Endogonaceae*, Zygomycetes. *Mycologia*, 78, 832–836.
- Berkeley, M. J., y Broome, C. E. (1873). Enumeration of the Fungi of Ceylon. Part II. Containing the remainder of the *Hymenomyces*, with the remaining established tribes of Fungi. *Journal of the Linnean Society of London Botany*, 14(73), 65–140.
- Bethlenfalvay, G. J., y Linderman, J. A. (1992). Mycorrhizae and crop productivity. *Horticultural Crops Research Laboratory*, USDA-ARS.
- Błaszowski, J. (2003). arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota), Endogone and Complexipes species deposited in the department of Plant Pathology, university of agriculture in szczecin, Poland. Address: <http://www.agro.ar.szczecin.pl/wjblaszowski>.
- Błaszowski, J., Blanke, V., Renker, C., y Buscot, F. (2004). *Glomus aurantium* and *G. xanthium*, new species in *Glomeromycota*. *Mycotaxon*, 90, 447–467.
- Błaszowski, J., Kovács, G. M., Balázs, T. K., Orłowska, E., Sadravi, M., Wubet, T., y Buscot, F. (2010). *Glomus africanum* and *G. iranicum*, two new species of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomeromycota*). *Mycologia*, 102, 1450–1462
- Błaszowski, J. (2012). Life cycle, significance, and structures of arbuscular mycorrhizae. En: *Glomeromycota*, 15-17. Polonia. W. Szafer Institute of Botany, Polish Academy of Science.
- Błaszowski, J., Furrázola Gómez, E., Chwał, G., Kozłowska, A., Lukács, F. A., y Kovács, G. (2015). Three new arbuscular mycorrhizal *Diversispora* species in *Glomeromycota*. *Mycological Progress*, 14, 105.
- Błaszowski, J., Kozłowska, A., Niezgoda, P., Goto, B. T., y Dalpé, Y. (2018). A new genus, *Oehlia* with *Oehlia diaphana* comb. nov. and an emended description of *Rhizoglomus vesiculiferum* comb. nov. in the *Glomeromycotina*. *Nova Hedwigia*, 107.
- Boon, E., Halary, S., Bapteste, E., y Hijri, M. (2015). Studying Genome Heterogeneity within the Arbuscular Mycorrhizal Fungal Cytoplasm. *Genome Biology and Evolution*, 7(2), 505–521.
- Bowen, G. D. (1987). The biology and physiology of infection and its development.
- Brundrett, M. C., Bougher, N., Dell, B., Grove, T., y Malajczuk, N. (1996). Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agriculture Research, Pirie Printers. Australia.
- Burggraaf, A. J. P., y Beringer, J. E. (1987). Nuclear division and VA-mycorrhizal in-vitro culture. In *Mycorrhizae in the next decade: Practical applications and research priorities; Proceedings of the 7th North American conference on mycorrhizae*, 190. University of Florida.
- Cavagnaro, T. R., Gao, L. L., Smith, F. A., y Smith, F. E. (2001). Morphology of arbuscular mycorrhizas is influenced by fungal identity. *New Phytologist*, 151, 469-475.
- Cavalier-Smith, T. (1998). A revised six-kingdom system of life. *Biological review*, 73(3), 203–266.

- Corradi, N., y Brachmann, A. (2017). Fungal Mating in the Most Widespread Plant Symbionts? *Trends in Plant Science*, 22(2), 175–183. doi:10.1016/j.tplants.2016.10.010.
- Croll, D., Giovannetti, M., Koch, A. M., Sbrana, C., Ehinger, M., Lammers, P. J., y Sanders, I. R. (2009). Nonself vegetative fusion and genetic exchange in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *New Phytologist*, 181(4), 924-937.
- Cuenca, G. (2015). Taxonomía y biodiversidad de los hongos micorrízico-arbusculares (HMA). En: *Las micorrizas arbusculares. Aspectos teóricos y aplicados*, 45-90. Caracas. Ediciones IVIC.
- Dickson, S. (2004). The *Arum-Paris* continuum of mycorrhizal symbioses. *New Phytologist*, 161, 187-200.
- 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.
- Fortin, J. A., Bécard, G., Declerck, S., Dalpé, Y., St-Arnaud, M., Coughlan, A. P., y Piché, Y. (2002). Arbuscular mycorrhiza on root-organ cultures. *Canadian Journal of Botany*, 80, 1-20.
- Frank, B. (1885). Über die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft*, 3, 128–145.
- Frioni, L. (2006). Microbiología, básica, ambiental y agrícola, Lillian Frioni. 291-308.
- Gallaud, I. (1905). Études sur les mycorrhizes endotrophes. *Revue Générale de Botanique*, 17, 5–48.
- García, M. H. (2009). Las micorrizas: una relación planta-hongo que dura más de 400 millones de años. In *Anales del jardín botánico de Madrid*, 66(1), 133-144. Real Jardín Botánico.
- Genre, A., Chabaud, M., Timmers, T., Bonfante, P., y Barker, D. (2005). Arbuscular Mycorrhizal Fungi Elicit a Novel Intracellular Apparatus in *Medicago truncatula* Root Epidermal Cells before Infection. *Plant Cell*, 17(12), 3489-3499.
- Gerdemann, J. W., y Trappe, J. M. (1974). The Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycologia Memoirs*, 5, 1–76.
- Gianinazzi, S., Gianinazzi-Pearson, V., y Dexheimer, J. (1979). Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhiza. III. Ultrastructural localization of acid and alkaline phosphatase in onion roots infected by *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.). *New Phytologist*, 82, 127-132.
- Gianinazzi-Pearson, V., van Tuinen, D., Dumas-Gaudot, E., y Dulieu, H. (2001). Exploring the genome of Glomalean fungi. En: Hock, B. (Ed.) *The Mycota IX. Fungal Associations* (3-17). Berlin. Springer-Verlag.
- Giovanetti, M., Sbrana, C., Avio, L., y Strani, P. (2004). Patterns of below-ground plant interconnections established by means of arbuscular mycorrhizal networks. *New Phytologist*, 164, 175-181.
- Goto, B. T., Silva, G. A., Assis, D., Silva, D. K., Souza, R. G., Ferreira, A. C., y Oehl, F. (2012). *Intraornatosporaceae* (*Gigasporales*), a new family with two new genera and two new species. *Mycotaxon*, 119(1), 117–132.

- Harley, J. L., y Smith, S. E. (1983). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press Inc.
- Hijri, M., y Sanders, I. R. (2004). The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is haploid and has a small genome size in the lower limit of eukaryotes. *Fungal Genetics and Biology*, 41, 253-261.
- Hijri, M., y Sanders, I. R. (2005). Low gene copy number shows that arbuscular mycorrhizal fungi inherit genetically different nuclei. *Nature*, 433, 160-163.
- Hijiri, M., Niculita, H., y Sanders, I. R. (2007). Molecular characterization of chromosome termini of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* (*Glomeromycota*). *Fungal Genetics and Biology*, 44, 1380-1386.
- Johnson N. C., Graham J. H., y Smith F. A. (1997). Functioning of mycorrhizal association along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytologist*, 135, 575-585.
- Krüger, M., Krüger, C., Walker, C., Stockinger, H., y Schüßler, A. (2012). Phylogenetic reference data for systematics and phylotaxonomy of arbuscular mycorrhizal fungi from phylum to species level. *New Phytologist*, 193, 970-984.
- Janfranco, L., y Young, J. P. W. (2012). Genetic and genomic glimpses of the elusive arbuscular mycorrhizal fungi. *Current Opinion in Plant Biology*, 15(4), 454-461.
- Luginbuehl, L. H., y Oldroyd, G. E. D. (2017). Understanding the arbuscule at the heart of Endomycorrhizal symbioses in plant. *Current Biology*, doi: 10.1016/j.cub.2017.06.042.
- Martínez, J. G., y de Aguilar Cormenzana, J. M. (2004). Las micorrizas, nuestras aliadas ocultas. *Fertilidad de la tierra: revista de agricultura ecológica*, 17, 9-13.
- Morton, J. B. (1988). Taxonomy of VA mycorrhizal fungi: classification, nomenclature, and identification. *Mycotaxon*, 32, 267-324.
- Morton, J. B., y Benny, G. L. (1990). Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (*Zygomycetes*): a new order, *Glomales*, two new suborders, *Glomineae* and *Gigasporineae*, and two new families, *Acaulosporaceae* and *Gigasporaceae*, with an emendation of *Glomaceae*. *Mycotaxon*, 37, 471-491
- Morton, J. B., y Redecker, D. (2001). Two new families of *Glomales*, *Archaeosporaceae* and *Paraglomaceae*, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. *Mycologia*, 93(1), 181-195.
- Mosse, B. (1953). Fructifications associated with mycorrhizal strawberry roots. *Nature*, 171(4361), 974-974.
- Mosse, B., y Bowen, G. D. (1968). A key to the recognition of some Endogone spore types. *Transaction British Mycology Society*, 51, 469-483.
- Munsell, A. H. (1905). A color notation. G.H. Ellis Company.
- Oehl, F., y Sieverding, E. (2004). *Pacispora*, a new vesicular arbuscular mycorrhizal fungal genus in the *Glomeromycetes*. *Journal of Applied Botany and Angewandte Botanik*, 72, 72-82.
- Oehl, F., Silva, G. A. D., Goto, B. T., Costa Maia, L., y Sieverding, E. (2011a). *Glomeromycota*: two new classes and a new order. *Mycotaxon*, 116, 365-379
- Oehl, F., Silva, G. A. D., Goto, B. T., y Sieverding, E. (2011b). *Glomeromycota*: three new genera and glomoid species reorganized. *Mycotaxon*, 116(1), 75-120.

- Oehl, F., Silva, G. A. D., Sánchez-Castro, I., Goto, B. T., Maia, L. C., Vieira, H. E. E., y Palenzuela, J. (2011c). Revision of Glomeromycetes with entrophosporoid and glomoid spore formation with three new genera. *Mycotaxon*, 117(1), 297–316.
- Parniske, M. (2008). Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology*, 6(10), 763.
- Phillips, J. M., y Hayman, D. S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 55(1), 158–160
- Read, D. J. (1991). Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia*, 47, 376–391.
- Redecker, D., Kodner, R., y Graham, L. E. (2000a). Glomalean fungi from the Ordovician. *Science*, 289(5486), 1920–1921.
- Redecker, D., Morton, J. B., y Bruns, T. D. (2000b). Molecular phylogeny of the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus sinuosum* and *Sclerocystis coremioides*. *Mycologia*, 92, 282–285.
- Redecker, D., Schüßler, A., Stockinger, H., Stürmer, S., Morton, J., y Walker, C. (2013). An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomeromycota*). *Mycorrhiza*, 23(7): 515–531.
- Schüßler, A., Schwarzott, D., y Walker, C. (2001). A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, 105, 1413–1421.
- Schüßler, A., y Walker, C. (2010). The *Glomeromycota*: a species list with new families and new genera. The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University.
- Sieverding, E., y Oehl, F. (2006). Revision of *Entrophospora* and description of *Kuklospora* and *Intraspora*, two new genera in the arbuscular mycorrhizal *Glomeromycetes*. *Journal of Applied Botanical Food Quality*, 80(1), 69–81.
- Silvani, V. A., Fernández Bidondo, L., Bompadre, M. J., Colombo, R. P., Pérgola, M., Bompadre, A. Fracchia, S., y Godeas, A. M. (2014). Growth dynamics of geographically different arbuscular mycorrhizal fungal isolates belonging to the ‘*Rhizophagus* clade’ under monoxenic conditions. *Mycologia*, 106(5), 963–975.
- Simard S. W., y Durall D. M. (2004). Mycorrhizal networks: a review of their extent, function, and importance. *Canadian Journal of Botany*, 82, 1140–1165.
- Simon, L., Bousquet, J., Levesque, R. C., y Lalonde, M. (1993). Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants. *Nature*, 363, 67–69.
- Smith, F.A., y Smith, S.E. (1997). Structural diversity in (vesicular)-arbuscular mycorrhizal symbioses. *New Phytologist*, 137, 373–388.
- Smith, S.E., y Read, D. J. (1997). *Mycorrhizal Symbiosis*. 1ra edición. New York. Academic Press.
- Smith, S. E., y Read, D. J. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis*. 3ra edición. New York. Academic Press.
- Spain, J. L., Sieverding, E., y Schenck, N. C. (1989). *Gigaspora ramisporophora*: A new species with novel sporophores from Brazil. *Mycotaxon*, 18, 443–455.

- Spatafora, J. W., Chang, Y., Benny, G. L., Lazarus, K., Smith, M. E., Berbee, M. L., Bonito, G., Corradi, N., Grigoriev, I., Gryganskyi, A., y James, T. Y. (2016). A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia*, 108, 1028–1046.
- Strulle-Derrien, C., Selosse, M. A., Kenrick, P., y Martin, F. M. (2018). The origin and evolution of mycorrhizal symbioses: from palaeomycology to phylogenomics. *New Phytologist*, 220(4), 1012–1030.
- Tedersoo, L., Sánchez-Ramírez, S., Kõljalg, U., Bahram, M., Döring, M., Schigel, D., May, T., Ryberg, M., y Abarenkov, K. (2018). High-level classification of the Fungi and a tool for evolutionary ecological analyses. *Fungal Diversity*, 90, 135–159.
- Thaxter, R. (1922). A revision of the Endogonaceae. *Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences*, 57, 291–351.
- Tulasne, L. R., y Tulasne, C. (1844). Fungi Nonnulli hypogaei, novi v. minus cogniti. *Giornale Botanico Italiano*, 2(7-8), 55–63.
- Tulasne, L. R., y Tulasne, C. (1851). Fungi Hypogaei: Histoire et Monographie des Champignons Hypogés: 1–222, Klincksieck, Paris.
- Turina, M., Ghignone, S., Astolfi, N., Silvestri, A., Bonfante, P., y Lanfranco, L. (2018). The virome of the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* reveals the first report of DNA fragments corresponding to replicating non-retroviral RNA viruses in fungi. *Environmental Microbiology*, 20(6), 2012–2025.
- Vierheilig, H., Schweiger, P., y Brundrett, M. (2005). An overview of methods for the detection and observation of arbuscular mycorrhizal fungi in roots. *Physiologia Plantarum*, 125, 393–404.
- Walker, C. (1983). Taxonomic concepts in the *Endogonaceae*; spore wall characteristics in species descriptions. *Mycotaxon*, 18, 443–455.
- Walker, C. H., y Sanders, F. E. (1986). Taxonomic concepts in the *Endogonaceae*. III. The separation of *Scutellospora* gen. nov. from *Gigaspora* Gerd. & Trappe. *Mycotaxon*, 27, 169–182.
- Walker, C., Vestberg, M., Demircik, F., Stockinger, H., Saito, M., Sawaki, H., y Schüßler, A. (2007). Molecular phylogeny and new taxa in the *Archaeosporales* (*Glomeromycota*): *Ambispora fennica* gen. sp. nov., *Ambisporaceae* fam. nov. and emendation of *Archaeospora* and *Archaeosporaceae*. *Mycological Research*, 111(2), 137–153.
- Wang, B., y Qiu, Y. L. (2006). Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza*, 16(5), 299–363.
- Wellman, C. H., Osterloff, P. L., y Mohiuddin, U. (2003). Fragments of the earliest land plants. *Nature*, 425, 282–285.