

Identificación de esporas de micorrizas en Biofertilizantes con inóculo de Monte Tlálloc, México

Identificação de esporos micorrízicos no Biofertilizador com inóculo de Monte Tlálloc, México

DOI: 10.34188/bjaerv4n1-068

Recebimento dos originais: 20/11/2020

Aceitação para publicação: 20/12/2020

Rosa Maria Reyes Ayala

Departamento de Agroecología

Universidad Autónoma Chapingo. Secretaría de Desarrollo Rural en Puebla. Carretera Federal México-Texcoco Km 38.5

Dirección: Universidad Autónoma de Chapingo, 56230 Texcoco, Méx

Correo Electrónico: rosa.reyes.ayala@gmail.com

Laura Gómez Tovar

Departamento de Agroecología

Universidad Autónoma Chapingo. Profesor-Investigador UACH. Carretera Federal México- Texcoco Km 38.5

Dirección: Universidad Autónoma de Chapingo, 56230 Texcoco, Méx

Correo Electrónico: gomezlaura@yahoo.com

Langen Corlay Chee

Departamento de Suelos

Universidad Autónoma Chapingo. Profesor-Investigador UACH. Carretera Federal México- Texcoco Km 38.5

Dirección: Universidad Autónoma de Chapingo, 56230 Texcoco, Méx

Correo Electrónico: langen.corlay@gmail.com

Angelina Chamizo Checa

Departamento de Agrobiología

Universidad Autónoma de Tlaxcala

Dirección: Av. Tlahuicole 505A, Adolfo López Mateos

Tlaxcala de Xicohténcatl, Tlax

Correo Electrónico: angelinabio21@yahoo.com.mx

RESUMEN

Ante la difusión de tecnologías agrícolas adecuadas para la apropiación de los campesinos, es necesario dar el acompañamiento científico para respaldar la veracidad de dichas prácticas, por ello, la investigación buscó documentar la presencia de hongos micorrízicos en el sustrato del biofertilizante denominado Microorganismos de Montaña (MM). Constantemente se hace referencia en la información que existe sobre los MM de la presencia de micorrizas, sin embargo, no había claridad de si era posible la presencia de dichos microorganismos. El inóculo de microorganismos empleado para el cultivo de MM evaluado proviene del Monte Tlálloc, Texcoco de Mora, México. La evaluación del proyecto consistió en cuantificar la cantidad de esporas presentes en un litro de MM en fase líquida, así como la identificación del género de las esporas. El

resultado fue un promedio de 410 esporas en cada litro de MM en fase líquida, por ende 16,400 esporas en un kilogramo de MM fase sólida. A demás se identificaron los géneros de esporas de hongos micorrízicos arbusculares: *Pacispora*, *Acaulospora*, *Claroideoglopus*, *Scutellospora* y *Glomus*. Siendo *Pacispora* la más persistente en el medio. Con esta investigación se confirma la presencia de hongos micorrízicos dentro de los grupos funcionales presentes en los Microorganismos de Montaña del Monte Tlálóc.

Palabras claves: Microorganismos nativos, ecotecnias, hongos micorrízicos, simbiosis, clasificación.

RESUMO

Antes da difusão de tecnologias agrícolas adequadas à apropriação dos agricultores, é necessário dar o acompanhamento científico para apoiar a veracidade destas práticas, por esta razão, a investigação procurou documentar a presença de fungos micorrízicos no substrato do biofertilizante chamado Microorganismos de Montanha (MM). Há uma referência constante à presença de micorrizas na informação que existe sobre o MM, no entanto, não ficou claro se a presença destes microrganismos era possível. O inóculo de microrganismos utilizados para a cultura MM avaliada provém de Monte Tlálóc, Texcoco de Mora, México. A avaliação do projecto consistiu em quantificar a quantidade de esporos presentes num litro de MM em fase líquida, bem como a identificação do género dos esporos. O resultado foi uma média de 410 esporos em cada litro de MM de fase líquida, portanto 16.400 esporos em um quilograma de MM de fase sólida. Os géneros de esporos de fungos micorrízicos arbusculares foram também identificados: *Pacispora*, *Acaulospora*, *Claroideoglopus*, *Scutellospora* e *Glomus*. Sendo *Pacispora* o mais persistente no meio ambiente. Esta investigação confirma a presença de fungos micorrízicos nos grupos funcionais presentes nos microrganismos de montanha do Monte Tlaloc.

Palavras-chave: Microorganismos nativos, ecotecnologias, micorrizas, simbiose, classificação.

1 INTRODUCCIÓN

Los Microorganismos de Montaña (MM) surgen como alternativa al producto industrial “Effective Microorganisms” (EM) de la empresa japonesa EMRO, originalmente desarrollado por el Dr. Teruo Higa (EMRO, 2013), quien a inicios de los 80’s descubrió la efectividad de una mezcla de 80 microorganismos a los que hace referencia como benéficos, mencionando la presencia de bacterias fotosintéticas, levaduras, actinomicetos, entre otras (Higa, 1991), sin dar especificar a nivel género.

Los MM son una tecnología artesanal que ha sido difundida como biofertilizante que mejora los niveles de supervivencia, el aumento del valor nutricional en el suelo, así como la disminución de incidencia de enfermedades, entre otros. La elaboración consiste en colocar material orgánico en proceso de degradación en condiciones que propicien la fermentación de dicho material; según Tencio (2014) surge a partir del apoyo de Shogo Sasaki miembro de la Agencia de Cooperación Internacional del Japón (JICA) en Costa Rica. Este producto captó la atención para su reproducción debido al bajo costo que representa, las diferentes aplicaciones y usos que se les puede dar, además

de ser microorganismos que se encuentran en las áreas naturales de una localidad o región, por lo que se promueve la reproducción de microorganismos nativos, los cuales se encuentran adaptados a las condiciones ambientales del sitio.

Según Campo *et al.* (2014) los MM, son un cultivo mixto de microorganismos benéficos (bacterias fotosintéticas, ácido láctico, levaduras, actinomicetos y hongos de fermentación), provenientes de diferentes ecosistemas (Monjarás, 2016), los cuales coexisten e interactúan desencadenando reacciones y procesos como metabolitos de microorganismos fermentadores (García, 2018), que promueven el equilibrio en el medio donde se les incorpora. En un reporte de JICA y el Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA) del Salvador (2015) se menciona que dentro de los MM existen micorrizas. Otros autores como Campo *et al.* (2014) indican la presencia de hongos y bacterias, sin especificar las familias; Umaña *et al.* (2017) citando a Kondo (2015) mencionan la presencia de hongos micorrízicos, sin precisar los géneros.

La presente investigación tuvo como objetivo central corroborar la existencia de hongos micorrízicos obteniendo densidad e identificación del género de esporas en la mezcla que compone a los grupos funcionales de los MM. Para ello se analizó el sustrato de los MM con inóculo proveniente del Monte Tláloc, en un área con vegetación de encinos, en Texcoco de Mora, Estado de México.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

Los MM empleados se fabricaron con un inóculo de hojarasca en degradación de un bosque de encinos del Monte Tláloc y que fueron elaborados en el mes de noviembre del 2017. El biofertilizante en fase sólida se obtiene de la mezcla de dicho inóculo con materiales que sean ricos en azúcares, fibra, alguna fuente de bacterias lácticas, y agua que de humedad necesaria a la mezcla, posteriormente esta es colocada en un envase con cierre hermético por un mes como mínimo antes de ser utilizado. Para un mejor aprovechamiento se utiliza la fase sólida como recurso para la fase líquida, teniendo una proporción del cinco por ciento de la fase sólida, el resto entre agua, una fuente rica en azúcares y se añade un producto con bacterias lácticas, la mezcla líquida se deja en un recipiente que permita la liberación de gases sin dar paso al aire.

El trabajo de investigación fue dividido en dos partes; la primera constó en contabilizar las esporas de los Microorganismos de Montaña en fase líquida al 10%, se eligió la dilución debido al alto contenido de Materia Orgánica que existe en la mezcla.

Se utilizó la técnica de decanto húmedo y tamizado propuesta por Gerdemann y Nicolson (1963), el proceso consistió en tomar 100 ml de los MM en fase líquida y diluirlos en un 900 ml de agua, agitando por 5 minutos y dejando la mezcla en reposo por 10 minutos con la intención de que

los sólidos se asentaran. La solución resultante se decantó a través de los tamices de 100, 200, 250 y 325 micras, posteriormente se colocó el material obtenido de los dos últimos calibres en cajas Petri cuadradas con la finalidad de contar las esporas (Gerdemann y Trappe, 1974), para esto, se utilizó un microscopio estereoscópico con el que se observaban las esporas presentes en la dilución. Fueron realizadas cinco repeticiones del mismo procedimiento, de manera en que se determinó el número promedio de esporas de micorrizas presentes en la fase líquida a 10%. Durante el conteo se hizo empleo de una micropipeta de volumen variable.

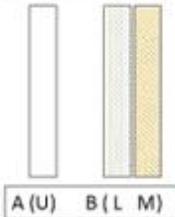
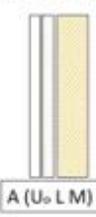
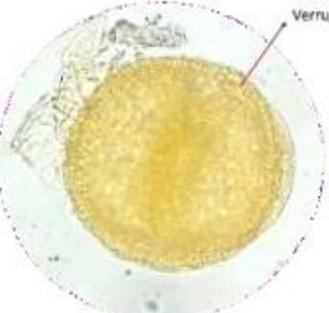
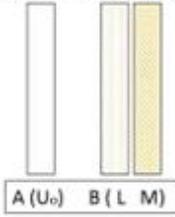
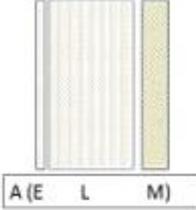
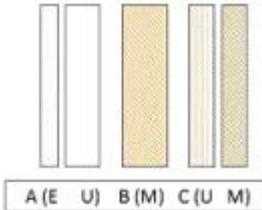
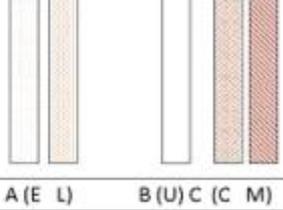
Las esporas se agruparon de acuerdo a su morfología (color, tamaño y forma); posteriormente se colocaron en portaobjetos, utilizando alcohol polivinílico, lactoglicerol y reactivo Melzer. Para la clasificación se distinguieron las características morfológicas: forma, color, conexión hifal, tipos y número de paredes. Con base en los murónimos señalados en el manual de Schenck y Pérez (1990) se clasificaron los grupos y formas de las paredes de las esporas, también se hizo uso del árbol filogenético propuesto en el estudio de Habiyaemye (2014) para entender las relaciones evolutivas entre los géneros. Para la determinación del color se utilizó como material de apoyo las tablas de color de suelos Munsell.

3 RESULTADOS

Se obtuvo un promedio de 40 esporas por cada 100 ml equivalente a 400 esporas por litro de MM en fase líquida del cultivo proveniente del Monte Tláloc. La densidad de esporas depende del sitio del que son colectados los propágulos de microorganismos para elaborar a los MM en fase sólida. Para el conteo se tomaron en cuenta únicamente las esporas enteras, de tal manera se infirió que estas se encontraban viables, dentro del consorcio de MM.

Dentro del cultivo observado de MM se encontraron cinco géneros distintos de hongos V/A; *Pacispora*, *Acaulospora*, *Claroideoglossum*, *Scutellospora* y *Glomus*, los cuales se describen en el cuadro 1. Para el reporte e interpretación, se representaron los grupos de muros y las formas de cada tipo de espora en murónimos con código de letras y murogramas. Los géneros con mayor número de esporas de los MM al momento de análisis fueron *Pacispora* con una persistencia del 43%, *Acaulospora* con el 31% y 26% restante entre los otros géneros mencionados.

Cuadro 1. Géneros de esporas de Hongos V/A identificados dentro del cultivo de MM provenientes de Monte Tlaloc, Estado de México.

 <p>Género <i>Pacispora</i> sp.</p>  <p>A (U) B (L M)</p> <p>Esporas de color amarillo pardusco 10YR 6/8 de las tablas de color de suelos de Munsell. Muy abundantes en el sustrato. Descripción de paredes: Grupo A: Unitaria. Grupo B: Laminada y Membranosa.</p>	 <p>Género <i>Acaulospora</i> sp.</p>  <p>A (U_o L M)</p> <p>Esporas de color blanco café muy pálido 10YR 8/2 de las tablas de color de suelos de Munsell. Abundantes en el sustrato. Descripción de paredes: Grupo A: Unitaria Ornamentada, Laminada y Membranosa.</p>	 <p>Género <i>Acaulospora</i> sp.</p>  <p>A (U_o) B (L M)</p> <p>Esporas de color amarillo 2.5Y 7/8 de las tablas de color de suelos de Munsell. Abundantes en el sustrato. Descripción de paredes: Grupo A: Unitaria Ornamentada. Grupo B: Laminada y Membranosa.</p>
 <p>Género <i>Claroideoglossum</i> sp.</p>  <p>A (E L M)</p> <p>Esporas de color amarillo rojizo 7.5YR 6/8 de las tablas de color de suelos de Munsell. Medianamente abundantes en el sustrato. Descripción de paredes: Grupo A: Evanescente, Laminada y Membranosa.</p>	 <p>Género <i>Scutellospora</i> sp.</p>  <p>A (E U) B (M) C (U M)</p> <p>Esporas de color amarillo pardusco 10YR 6/6 de las tablas de color de suelos de Munsell. Poco abundantes en el sustrato. Descripción de paredes: Grupo A: Evanescente y Unitaria. Grupo B: Membranosa. Grupo C: Unitaria y Membranosa.</p>	 <p>Género <i>Glomus</i> sp.</p>  <p>A (E L) B (U) C (C M)</p> <p>Esporas de color gris rojizo oscuro 10R 4/8 de las tablas de color de suelos de Munsell. Poco abundantes en el sustrato. Descripción de paredes: Grupo A: Evanescente y Laminada. Grupo B: Unitaria. Grupo C: Corácea y Membranosa.</p>

Fuente: Elaboración propia, 2019

4 DISCUSIÓN

En el cultivo de Microorganismos de Montaña del Monte Tláloc, Estado de México se contó con la presencia de propágulos de micorrizas, en especial de esporas.

A pesar del tiempo de almacenamiento anaeróbico las esporas se mantuvieron; sin embargo, es probable que en los meses anteriores del producto se haya contado con más esporas y quizá mayor cantidad de géneros de esporas micorrízicas. La cantidad de esporas depende de una serie de variables como el sitio de donde se extrae el mantillo para la elaboración de la fase sólida de los MM, el pH y las condiciones de almacenamiento (Silvia *et al.*, 2005).

Hasta el momento las evaluaciones científicas con MM siguen siendo escasas, y en relación con la existencia de hongos micorrízicos es un trabajo pionero. A pesar de que los hongos de la división Glomeromycota han tomado en los últimos años gran importancia (Álvarez, *et al.*, 2019) por sus aportes en la industria agrícola (Shüßler *et al.*, 2001), que van desde el aumento de absorción de nutrimentos en el suelo, su influencia al acceso hídrico, la protección contra agentes patógenos y su rol ecológico en las sucesiones de comunidades vegetales (Aguilera *et al.*, 2007), los estudios específicos de los efectos por géneros continúan siendo insuficientes (Shüßler y Walker, 2010). Dentro de los resultados de la primera fase de la investigación, los géneros identificados de las esporas son *Acaulospora*, *Pacispora*, *Claroideoglosum*, *Scutellospora* y *Glomus*; siendo las dos primeras las más abundantes.

La detección de las esporas de hongos micorrízicos dentro de los MM es de interés ya que las esporas son la principal vía de dispersión y persistencia de estos hongos y según Chimal *et al.* (2015) en algunos géneros, son los únicos propágulos a partir de los cuales se puede establecer o restablecer las relaciones micorrízicas; además con la presente investigación se contribuye a la descripción de los microorganismos presentes en el consorcio de los MM.

A las micorrizas se les ha encontrado en simbiosis con la mayoría de plantas en la tierra (Smith y Read, 2008); igualmente se les atribuye una gran importancia ecológica, sin embargo, según Krüger *et al.* (2012) la biología y ecología de estos hongos sigue sin ser comprendida en su totalidad. En la actualidad la información sobre la distribución de los géneros sigue siendo escasa, asimismo los criterios para la definición taxonómica.

Las esporas del género *Pacispora* son por primera vez descritas por Oehl y Sieverding (2004), éstas se forman en las hifas, una característica que comparten solo con *Glomus* y *Paraglomus*; su distribución ha sido descrita por los autores en Europa Central. El género *Acaulospora* se caracteriza por formarse a partir del cuello hifal del sáculo esporífero, al madurar se desprenden y presentan una cicatriz que evidencia su formación acaulosporide (Varela *et al.*, 2017); la distribución descrita por Oehl *et al.* (2006) se da en las regiones altas de los Alpes suizos; sin

embargo, algunas especies han sido reportadas en México (Varela, *et al.*, 2017). *Claroideoglomerus* es el único género en la familia Claroideoglomeraceae; al igual que la familia, corresponde al grupo filogenético *Glomus* Grupo B., éstas poseen una pared interna desarrollada por separado (Schüßler y Walker, 2010); la distribución no se encuentra especificada. Koide y Mosse (2004) mencionan en su artículo que Walker (1987) da las primeras referencias encontradas las cuales describen a los hongos del género *Scutellospora*; éstos son endomicorrizales capaces de formar arbusculos y vesículas elipsoidales terminales o intercalarias en la raíz (Habiyaemye, 2014); todas las esporas de este género poseen un escudo de germinación, el cual es una estructura membranosa utilizada en la germinación de esporas (Oehl, *et al.*, 2008); se les ha encontrado en Norte América (Walker, 1987). *Glomus* es uno de los géneros más estudiados; la primera referencia es de 1845 por Tulasne y Tulasne en Italia. Las especies de este género producen endomicorrizas con arbusculos y vesículas; Gerdermann y Trappe (1994) la describen como el tipo más común de encontrar como micorriza con diferentes plantas estudiadas; por esto mismo se les ha referenciado con gran distribución alrededor de la tierra. En México, se han reportado en todos los ecosistemas (Camargo *et al.*, 2012).

De los géneros identificados en los MM del Monte Tláloc, Estado de México los más utilizados en la industria de biofertilizantes son *Glomus* y *Acaulospora*; así como hay poca investigación experimental con relación al género *Scutellospora*.

Durante la toma de las esporas para el proceso de identificación se observó que las muestras en líquido que llevaban más tiempo presentaban esporas más frágiles, sobre todo el género *Acaulospora* que tiene paredes con menor grosor. Esto puede ser referencia para otro estudio en el que se evalué la calidad de las esporas micorrízicas a través de los días de fermentación de los MM en fase líquida. Así como evaluar la cantidad y calidad de esporas en los MM en fase sólida. Müller *et al.* (2016) mencionan que la formación de órganos como esporas y vesículas es parte importante en el ciclo de vida de los hongos micorrízicos V/A, pero que las condiciones en las que esto ocurre siguen sin ser totalmente comprendidas; por lo que las formas de almacenamiento de los propágulos micorrízicos varían según el género, y es probable que el sustrato de los MM que contiene melaza, salvado de trigo y leche no haya sido afectado en la latencia de las espóras.

Dentro de las muestras líquidas recorridas en el microscopio estereoscópico se observaron restos de micelio, los cuales también sirven como propágulos para la dispersión de micorrizas; según Martín y Rivera (2015) la propagación de los hongos V/A se da a través de esporas, micelio y fragmentos de raíces colonizadas. Aunque hay algunos géneros que solo pueden dispersarse a través de esporas (Müller *et al.*, 2016).

5 CONCLUSIONES

En el consorcio de Microorganismos de Montaña del Monte Tláloc, Estado de México; se identificaron cinco géneros de hongos micorrízicos Vesículo/Arbusculares (V/A) *Acaulospora*, *Pacispora*, *Claroideoglosum*, *Scutellospora* y *Glomus*. Los géneros *Acaulospora*, *Glomus* y *Scutellospora* son los géneros más comunes en las investigaciones agrícolas.

El campo de investigación sigue siendo amplio, y a pesar de que en esta investigación la presencia de esporas micorrízicas ha sido positiva, como ya se mencionaba en la discusión las densidades de propágulos, así como los géneros están sujetos a variaciones debido a las condiciones de vegetación, uso de suelo, temporada y forma de extracción del inóculo para el biofertilizante denominado Microorganismos de Montaña.

REFERENCIAS

Aguilera, L.; Olalde, V.; Arriaga, M.R. y Contreras, R. (2007). Micorrizas arbusculares. *Ciencia ergo sum*. 14(3): 300-306.

Álvarez, P., González, Y. & Almeida, M., 2019. Influencia de diferentes niveles de Nitrógeno combinado y sin combinar con *Glomus Fasciculatum* sobre el cultivo de Tomate. *Revista Granmense de Desarrollo Local*, pp. 30-44.

Camargo, S.; Montaña, N.; De la Rosa, C. y Montaña, S. (2012). Micorrizas: Una gran unión debajo del suelo. *Revista Digital Universitaria-UNAM*. 13(7): 1-19.

Campo, A. d. P.; Acosta, R.; Morales, S. y Padro, F. (2014). Evaluación de Microorganismos de Montaña (MM) en la producción de Acelga en la Meseta de Popayán. Cauca, Colombia. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 12(1): 79-87.

Chimal, E.; García, R. y Hernández, L. (2015). Gran riqueza de hongos micorrizógenos arbusculares en el Valle del Mezquital, Hidalgo, México. *Revista mexicana de micología*. 41: 14-26.

EMRO. (2013). *Effective Microorganisms*. <https://www.emrojapan.com/> Fajardo, E. & Sarmiento, S., 2007. *Evaluación de la melaza de caña como sustrato para la producción de Saccharomyces cerevisiae*. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. (Consultado mayo 08, 2017).

García, C., 2018. Producción de ácidos lactobiónico/láctico y sistemas experimentales considerando la interacción entre microorganismos productores, Asturias, España: Universidad de Oviedo.

Gerdemann, J.W. y Nicholson, T.H. (1963). Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans Br Mycol Soc*. 46: 235-244.

Gerdemann, J. y Trappe, J. (1974). The Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycologia Memoir* No. 5. 76p. En: N. Schenck & I. Pérez, edits. *Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi*. Gainesville, USA: Synergistic Publications (2001). Pp. 26- 36.

Habiyaremye, J. d. D. (2014). *Abundance, identificaion and Effectiveness of indigenous AMF Species Associated with Agroforestry Systems in the semi-arid and humind Agroecologies of Rwanda*, Institut for basic Sciences, Technology and Innovation. Rwanda. 18-26.

Higa, T. (1991). *Effective microorganisms: A biotechnology for mankind*. Washington, D.C., USA, S.N.

JICA y CENTA. (2015). *Microorganismos. Guía Técnica 4*, El Salvador: Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA), Gerencia de Transferencia de Tecnología. Ciudad Arce, El Salvador. Pp. 2-4.

Koide, R. y Mosse, B. (2004). A history of research on arbuscular mycorrhiza. *Mycorrhiza*. 14: 145-163.

Kondo, S. (2015). *Producción agroecológica: Agricultura orgánica I. Documento técnico de PROPA-Oriente*. MAG. [En línea] https://www.jica.go.jp/project/elsalvador/0603028/pdf/production/booklet_01.pdf (Consultado junio 15, 2018).

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.

Martín, G. y Rivera, R. (2015). Influencia de la inoculación micorrízica en los abonos verdes. Efectos sobre el cultivo principal. Estudio de caso: Maíz. *Cultivos Tropicales*. 36: 34-50.

Monjarás, J. A. (2016). *Vía Orgánica* <https://viaorganica.org/microorganismos-de-montana/> (Consultado agosto 13, 2018).

Müller, A.; Ngwene, B.; Peiter, E. y George, E. (2016). Quantity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungal storage organs within dead roots. *Mycorrhiza*. 27: 201- 210.

Oehl, F. y Sieverding, E. (2004). Pacispora, a New Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungal Genus in the Glomeromycetes. *Journal of Applied Botany*. 78: 72-82.

Oehl, F.; de Souza, A. y Sieverding, E. (2008). Revision of Scutellospora and description of five new genera and three new families in the arbuscular mycorrhiza-forming Glomeromycetes. *Mycotaxon*. 106: 311-360.

Oehl, F.; Sýkorová, Z.; Redecker, D.; Wiemken, A. y Sieverding, E. (2006). Acaulospora alpina, a new arbuscular mycorrhizal fungal species characteristic for high mountainous and alpine regions of the Swiss Alps. *Mycologia*. 98: 286-294.

Schenck, N.C. y Pérez, Y. 1990. *Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi*. Tercera ed. Florida, USA: Synergistie. Pp. 78-120.

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*. http://www.amf-phylogeny.com/species_infos/higher_taxa/funneliformis_claroideoglomus_rhizophagus_redeckeria.pdf, England: Gloucester. (Consultado diciembre 16, 2018).

Silvia, F., Yano-Melo, A., Brandão, J.,; Maia, L. (2005). Sporulation of arbuscular mycorrhizal fungi using Tris-CHI buffer in addition to nutrient solutions. *Brazilian Journal of Microbiology*. 36(4): 327-332.

Smith, S. y Read, D. (2008). *Mycorrhizal symbiosis*. Amsterdam, the Neatherland and Boston, MA, USA: Academic Press. 45-96.

Tencio, R. (2014). *Uso de microorganismos benéficos en la agricultura orgánica o ecológica en Costa rica.*, Quebradilla de Dota: Centro de información Ministerio de Agricultura y Ganaderia Región central, Santa María, Costa Rica. 1-9

Tulasne, L. y Tulasne, C. (1845). Fungi nonnulli hypogaei, novi. v. minus cogniti act. *Giornale Botatico Italiano*. 2: 35-63.

Umaña, S.; Rodríguez, K. y Rojas, C. (2017). ¿Funcionan realmente los microorganismos de montaña (MM) como estrategia de biofertilización? Un enfoque de ingeniería de biosistemas. *Revista de ciencias ambientales - Tropical Journal of Environmental Sciences*. 51(2): 133-144.

Varela, L.; Mora, A.; Chávez, C.; Martínez, A.; García, R.; Chimal, E. y Montaña, N. (2017). Acaulospora alpina y Ambispora fennica, dos registros nuevos de hongos micorrízicos para México. *Revista mexicana de Biodiversidad*. 88: 496-501.

Walker, C. (1987). *Current concepts in the taxonomy of the Endogonaceae. Proceedings of the 7th NACOM. IFAS, University of Florida. Gainesville, Florida, USA. 300-302.*