

## MICORRIZAS EN LA AGRICULTURA: CONTEXTO MUNDIAL E INVESTIGACION REALIZADA EN COSTA RICA<sup>1</sup>

Fabio A. Blanco<sup>2\*</sup>, Eduardo A. Salas\*

### RESUMEN

El objetivo de este trabajo es presentar una revisión breve de la investigación aplicada sobre micorrizas, realizada en el mundo y en particular en Costa Rica. Se define el término "micorriza" y se mencionan los distintos tipos que existen. Se pone énfasis en las micorrizas arbusculares (MA). La micorriza arbuscular se presenta como un mejorador de la nutrición, tanto de plantas como del suelo. Se discuten diferentes roles de la micorriza, tales como: contribución a la absorción de minerales por la plantas, aumento de la tasa fotosintética, redistribución del carbón fijado hacia las raíces, aumento en biomasa y en diversidad de los microorganismos del suelo (y por tanto de la estabilidad del suelo), efectos inhibitorios o estimulatorios sobre las bacterias fijadoras de N, las solubilizadoras de P y sobre los patógenos de plantas. Por otro lado, se revisa también el efecto de las prácticas agrícolas sobre la micorriza, tales como: labranza del suelo y quemas, aplicación de fertilizantes y plaguicidas y secuencias y sistemas de cultivos. Este trabajo incluye además el estado presente de la investigación y uso de las micorrizas en Costa Rica. Se citan experiencias del uso de ectomicorrizas en coníferas exóticas y en *Quercus* sp. En cuanto a las MA, se presenta la lista de aislamientos de la colección existente y disponible en la Universidad Nacional. Estos aislamientos provienen de diversas zonas del país. También se mencionan experimentos de inoculación efectuados en invernadero y campo, con diferentes cultivos. Los efectos benéficos se han constatado principalmente en experiencias de invernadero. Por último, se dan recomendaciones para investigaciones futuras.

### ABSTRACT

**Mycorrhiza in agriculture: worldwide context and research done in Costa Rica.** The objective of this paper is to present a brief review of the applied research on mycorrhiza, done worldwide and in Costa Rica. Mycorrhiza is defined and different types are mentioned. Emphasis is placed on the arbuscular type (AM). The arbuscular mycorrhiza is presented as a nutrition enhancer of plants and soils as well. Thus, several roles of mycorrhiza are discussed, such as: contribution to mineral uptake by plants, increase in photosynthetic rate, redistribution of fixed carbon towards roots, increase in biomass and diversity of soil microorganisms (and therefore of the stability of soil), inhibition or stimulation effects on N-fixing, P-solubilizing bacteria and on plant pathogens. On the other hand, the effect of agricultural practices on mycorrhiza are also reviewed. Among these practices, soil tillage and burning, fertilizer and pesticide applications, crop sequences and systems, are discussed. This paper includes also an account of present status of mycorrhiza research and applications in Costa Rica. Experiences such as the research and use of ectomycorrhiza in exotic coniferae and on *Quercus* sp. are cited. As to arbuscular mycorrhiza, the collection of pure cultures, available at Universidad Nacional, is listed. These cultures come from diverse zones of the country. Glasshouse and field inoculation experiments, performed on several crops, are also presented. Beneficial effects have been found mainly in glasshouse experiments. Lastly, recommendations for future research are given.

### DEFINICION, CLASIFICACION Y DIFERENCIAS

Las micorrizas son una asociación simbiótica mutualista entre raíces de plantas superiores

1/ Documento expuesto en el II Congreso Nacional de Suelos. Julio 1996, San José, Costa Rica.

2/ Autor para correspondencia.

\* Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional, Apartado postal 86-3000. Heredia, Costa Rica.

y ciertos grupos de hongos del suelo. Estos hongos dependen de la planta para el suministro de carbono, energía y de un nicho ecológico, a la vez que entregan nutrientes minerales (especialmente los poco móviles como P); además, les imparten otros beneficios como: estimulación de sustancias reguladoras de crecimiento, incremento de la tasa fotosintética, ajustes osmóticos cuando hay sequía, aumento de la fijación de N por bacterias simbióticas o asociativas, incremento de resistencia a plagas, tolerancia a estrés ambiental, mejoramiento de la agregación del suelo y mediación en muchas de las acciones e interacciones de la microflora y microfauna, que ocurren en el suelo, alrededor de las raíces (Bethlenfalvay y Linderman 1992).

Las micorrizas se han clasificado con base en su estructura, morfología y modo de infección en dos tipos principales: ectomicorrizas y endomicorrizas. Este último se divide en varios subtipos: Ectendomicorriza, Arbutoides, Monotropoides, Ericoides, Orquidáceas y las Arbusculares que son las más comunes (Sieverding 1991). Las micorrizas arbusculares (MA) pertenece al orden

Glomales. El suborden Glomineae tiene 2 familias: Glomaceae que comprende los géneros *Glomus* y *Sclerocystis*, y *Acaulosporaceae*, que incluye 2 géneros: *Acaulospora* y *Entrophospora*. El suborden Gigasporineae, tiene una sola familia: Gigasporaceae con 2 géneros: *Gigaspora* y *Scutellospora* (Bentivenga y Morton 1994).

Se ha estimado que alrededor del 95% de las especies de plantas vasculares pertenecen a familias que son característicamente micorrízicas (Safir 1994).

Un gran número de géneros y especies (Gerdemann 1968) de Amaranthaceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Commelinaceae, Cruciferae, Cyperaceae, Juncaceae, Fumariaceae, Lecythidaceae, Portulacaceae, Proteaceae, Restionaceae, Sapotaceae, Urticaceae y Zygothylaceae no forman micorriza.

En el presente trabajo se hace referencia especial a las micorrizas arbusculares (MA) con algunas alocuciones sobre ectomicorrizas (EM).

El Cuadro 1 resume las diferentes más notables entre ambos grupos de micorrizas.

Cuadro 1. Resumen de las características y diferencias entre micorrizas arbusculares y ectomicorrizas.

Micorrizas arbusculares	Ectomicorriza
Clase taxonómica: Zigomicetes	Clases taxonómicas: Basidiomicetes, Ascomycetes y Ficomycetes
<ul style="list-style-type: none"> <li>- No forma manto hifal, micelio aseptado</li> <li>- Crecimiento inter e intracelular en corteza radical</li> <li>- Hospederos: árboles, arbustos, hierbas</li> <li>- Reproducción: asexual, clamidosporas y micelio.</li> <li>- Diversidad: solo 6 géneros con 150 especies descritas, diversidad fisiológica, intraespecífica.</li> <li>- No hay especificidad a hospederos</li> <li>- Menor selectividad a requerimientos ambientales</li> <li>- Ocurren en toda clase de suelos.</li> <li>- Predominan en suelos tropicales con bajos contenidos de materia orgánica</li> <li>- Absorben P, Zn, Cu que son poco móviles y otros elementos de la solución del suelo.</li> <li>- No son descomponedores</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Formación de manto, micelio septado.</li> <li>- Crecimiento del micelio intercelular</li> <li>- Hospederos: árboles maderables</li> <li>- Reproducción: sexual y asexual</li> <li>- Diversidad: 148 géneros con 5400 especies</li> <li>- Desde mucha a ninguna especificidad</li> <li>- Selectivos a requerimientos ambientales</li> <li>- Mayor distribución en bosques de zonas templadas y en suelos con alto contenido de materia orgánica.</li> <li>- Absorben P, Zn, etc., son descomponedores y aprovechan fuentes orgánicas de N.</li> </ul>

## IMPORTANCIA DE LAS MICORRIZAS EN LA AGRICULTURA

La micorriza cumple una función clave en la agricultura sostenible. En el prefacio del libro

Mycorrhizae in sustainable agriculture, Bethlenfalvay y Linderman (1992) concluyen que "si el objetivo es reducir los insumos químicos por razones ambientales y de salud, entonces se necesita restablecer los hongos micorrizógenos y

otros microbios benéficos a un alto nivel de efectividad para compensar la reducción de insumos". Esta estrategia coincide con el punto de vista de que el grado de empobrecimiento o desaparición de la microflora MA es un indicador del descenso en estabilidad del sistema planta-suelo, de la misma forma que el nivel de estrés causado por las prácticas culturales es una medida de sostenibilidad de la agricultura (Bethlenfalvay 1992).

De acuerdo con esta visión, la agricultura sostenible sólo es posible mediante un aprovechamiento óptimo y responsable de los microorganismos y otros pobladores del suelo.

La importancia de los hongos micorrizógenos no estriba sólo en que pueden representar la fracción mayor de la biomasa del suelo, alcanzando hasta 20% del total de masa seca de la micorriza (Bethlenfalvay 1992). Su función clave radica en que, su abundante micelio intra y extraradical, constituye un enlace o puente entre las plantas y el suelo. Así como se habla de plantas hospedadas, Bethlenfalvay y Linderman (1992) propusieron el concepto de suelo hospedero (host soil) para enfatizar el hecho de que, como las plantas, el suelo es un medio viviente. En este sentido, la micorriza influye y conecta los componentes bióticos del suelo entre sí y con los abióticos.

Cuando se forma la micorriza, se altera la fisiología y exudación radicales, lo que a su vez cambia la población microbiana circundante. Esto ha dado lugar a redefinir la rizosfera, zona de influencia directa de las raíces en la biología del suelo, como micorrizosfera (Linderman 1992). Además, el micelio extraradical, que en sí mismo es un sustrato alimenticio para otros microbios, puede extenderse más allá de los 9 cm desde la raíz (en contraste con 2 mm de la rizosfera) (Bethlenfalvay 1992) transfiriendo así compuestos de carbono y ampliando la esfera de influencia de la biota rizosférica a mayor distancia. Desde esta óptica, la micorriza no sólo contribuye a la nutrición de la planta, puesto que explora un volumen de suelo mayor que el de la raíz sola, sino también a la nutrición del suelo (Bethlenfalvay y Linderman 1992), por cuanto incrementa la actividad microbiana.

## **FUNCION DE LA MICORRIZA**

Al analizar la función de la micorriza, no debe perderse de vista la existencia de interacciones

múltiples entre los hongos MA, las plantas, el suelo, la microflora y microfauna y el ambiente circundante. No obstante, para simplificar, se abordará este tema en 3 secciones: micorriza y nutrición vegetal, micorriza y microorganismos del suelo, prácticas agrícolas y micorrizas.

### **Micorrizas y nutrición vegetal**

Hasta aproximadamente la década anterior, la investigación de las micorrizas tuvo un marcado sesgo hacia sus potencialidades para mejorar la nutrición de las plantas, las cuales, se discutirán a continuación. Sin embargo, al iniciar esta sección, debe advertirse que, esta podría no ser la función más importante de las MA, especialmente en el contexto de la agricultura sostenible, como se mencionará más adelante.

Los iones más móviles de la solución de suelo, como  $\text{NO}_3$ , son más fácilmente accesibles para las raíces absorbentes que los poco móviles como los de P, Zn, Cu y Mo, y en menor grado K y S (Sieverding 1991). La absorción de los iones menos móviles depende del volumen de suelo explorado por el sistema de raíces absorbentes. En este caso, la micorriza tiene ventaja sobre la raíz no micorrizada porque el micelio externo se extiende a mayor distancia que los pelos radicales. Diversas estimaciones (Finlay y Söderström 1992) indican que 1 cm de raíz micorrizada contiene entre 80 y 3000 cm de micelio extraradical. Estimaciones más recientes (Miller et al. 1995) dan datos de 111  $\text{m/cm}^3$  en pradera y 81  $\text{m/cm}^3$  en pastura, lo que equivale a 457 y 339  $\text{ug/cm}^3$  del suelo, respectivamente. La micorriza arbuscular absorbe sus nutrientes del mismo reservorio (solución de suelo) que la raíz (Sieverding 1991).

Desde el punto de vista nutricional, el mayor beneficio que las plantas derivan de la micorriza es un mayor crecimiento debido a un incremento en la absorción de P cuando este elemento es limitante. Teniendo la mayor parte de los suelos tropicales poca disponibilidad de P para las plantas, la utilidad de las micorrizas en estas condiciones resulta obvia.

Cuando el P no es limitante, el beneficio puede ser nulo o reducido, según el grado de dependencia micorrizica de la planta. Es conocido además que altos niveles de P inhiben la simbiosis.

Por otro lado, está demostrado que la micorriza influye en forma directa o indirecta en la absorción de otros iones minerales (N, K, Ca, Mg, Fe, Mn) (Johansen et al. 1994).

Las plantas micotróficas exhiben diferente grado de dependencia micorrícica (Janos 1980). Mientras que las plantas obligadas (ej. yuca, puerro, y muchas leguminosas tropicales) no pueden crecer sin micorriza aún en suelos fértiles (altos en P), las plantas facultativas (ej. muchas gramíneas, frijol, chile, etc.) se benefician de la infección micorrícica incrementando su crecimiento cuando los niveles de P son bajos. Estas pueden sobrevivir y crecer sin micorriza en condiciones de suelos fértiles.

La respuesta de la planta a la inoculación con MA depende del nivel de fertilidad del suelo, de la planta hospedera y del hongo MA. Plantas micotróficas obligadas pueden presentar una respuesta alta (yuca) o leve; plantas micotróficas facultativas podrían presentar una respuesta a la micorriza alta (maíz) o baja (sorgo) (Sieverding 1991).

Por otro lado, se ha demostrado diferencias intraespecíficas en la respuesta de la planta a la inoculación con MA. Ejemplos han sido presentados por varios autores (Clement y Habte 1995, Di y Allen 1991).

Además, las especies fúngicas MA también presentan diferencias interespecíficas (Salas 1990, Rojas 1992) de efectividad para absorber P y otros nutrientes y traslocarlos a la planta. Del mismo modo, morfotipos de la misma especie MA, colectados de diferentes sitios confieren diferente beneficio fisiológico a la misma especie de planta (Allen et al. 1995). Por ejemplo, un morfotipo de *Glomus albidum* colectado de plantaciones de banano en Guápiles, demostró una efectividad superior para promover el crecimiento de plantas de banano, que otro morfotipo de la misma especie pero procedente de agrosistemas de frijol-maíz de Pejibaye de Pérez Zeledón (Arias et al. 1996). Es interesante que un morfotipo de *Glomus macrocarpum* Tul. & Tul. (Modjo y Hendrix 1986) causa achaparramiento en tabaco y otro morfotipo de la misma especie se empleó para combatir el mismo mal en chile dulce (*Capsicum annuum*) (Haas et al. 1987).

### Micorrizas y microorganismos del suelo

Los microorganismos del suelo presentan interacciones complejas que afectan la fertilidad

del suelo y el desarrollo de las plantas. Los hongos MA además de su efecto directo en la nutrición de las plantas inducen cambios fisiológicos que comprenden un aumento en la tasa fotosintética y redistribución del carbono fijado en mayor proporción hacia las raíces. Estudios realizados por Lynch y Whipps (1990) y Finlay y Söderström (1992) han indicado que las plantas micorrizadas transfieren hacia la micorriza entre 6 y 12% adicional del total del carbono fijado en comparación con las plantas no micorrizadas. Esto, al final, representa un notable aumento del carbono disponible para la actividad microbiana.

### Efectos de inhibición y estimulación

Se han comprobado efectos estimulatorios de los procesos de germinación de las esporas y crecimiento del endófito MA por bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Corynebacterium* y *Streptomyces* (Linderman 1992). No se conoce si las bacterias son específicas a los hongos, como ocurre con las bacterias auxiliares de la ectomicorrización (Garbaye 1994).

Por otra parte, Linderman (1992) cita algunos ejemplos de inhibición como: suelos inhibitorios (que al ser pasteurizados permitieron la germinación de las esporas MA agregadas, indicando que los microorganismos del suelo son los involucrados en la inhibición de la germinación), competencia por recursos y parasitismo diferenciado de acuerdo a la especie fúngica MA y al color y edad de las esporas. Garbaye (1991) menciona que hongos y bacterias antagonistas producen sustancias tóxicas (antibióticos) o son eficientes competidores por los exudados radicales que es el sustrato usado por los hongos micorrícicos antes de que estos penetren en la raíz y lleguen a ser biotróficos.

### Micorrizas y fauna del suelo

Rabatin y Stinner (1989) en su revisión sobre la interacción de micorrizas arbusculares con macroinvertebrados del suelo (ej. lombrices, nematodos) concluyen que tienen un efecto neto positivo en las poblaciones MA y contribuyen a su distribución espacial.

Sin embargo, hay informes de reducción del crecimiento de hongos MA en experimentos controlados con microartrópodos. Se ha demostrado que los Collembola se alimentan de las

hifas extrarradicales de los hongos MA, causando reducciones en su efectividad y reducen la longitud de raíz colonizada (Kaiser y Lussenhop 1991).

### Fijación Biológica del Nitrógeno

La colonización de raíces por MA es estimulada por *Rhizobium* y a la vez el hongo favorece la nodulación e incrementa el número de nódulos en plantas micorrizadas versus no micorrizadas. Además, el contenido de P de los nódulos de plantas micorrizadas es generalmente más grande que en las plantas no micorrizadas (Azcon-Aguilar y Barea 1992).

Muchos coinciden en que el aumento de la fijación de N en plantas micorrizadas es debido al aumento de la nutrición de P del hospedero. No obstante esta hipótesis ha sido cuestionada por resultados opuestos (Linderman 1992).

También la interacción de la micorriza con *Frankia* (actinomicete fijador de N) es sinérgica, (Sempabalam et al. 1995).

Las especies pertenecientes a las Gimnospermas del orden Cycadales son noduladas por la cianobacteria *Nostoc* o *Anabaena*, endófitos que coexisten con los hongos MVA (Azcon-Aguilar y Barea 1992).

También se ha demostrado que inoculación con bacterias libres fijadoras de N y hongos MA favorecen el crecimiento de las plantas. El beneficio para los tres simbioses no siempre es equitativo como lo demostraron Isopi et al. (1995). Ellos utilizaron esporas de hongos MA como medio de inoculación de *Acetobacter diazotrophicus* y encontraron que la concentración de N aumentó, y el número de bacterias aumentaron, aunque la colonización de MA decreció.

### Rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas

Existe evidencia de que bacterias promotoras del crecimiento como *Pseudomonas putida* (cepa F-44), actúan sinérgicamente con algunas especies de hongos MA; el efecto es mayor si son inoculados simultáneamente a la siembra. El hongo es favorecido en una mayor producción de esporas, aspecto que podría considerarse en la producción de inóculo de MA (Sieverding 1991).

Se ha considerado que la producción de sideróforos es un mecanismo del modo de acción de bacterias promotoras del crecimiento. Actualmente a los hongos micorrícicos se les involucra en el suplemento de Fe a las plantas y los sideróforos pueden estar involucrados en la transferencia de Fe a las zonas de absorción de las micorrizas (Azcon-Aguilar y Barea 1992).

### Bacterias solubilizadoras de fósforo

Se han observado interacciones, positivas para la planta, entre bacterias solubilizadoras de P y hongos MVA (Young 1990). Sin embargo, no se sabe si el aumento en el crecimiento es debido a incrementos de la disponibilidad de P solubilizado por las bacterias o es por otros mecanismos (Linderman 1992).

### Efectos de la micorriza contra patógenos de plantas

Muchos son los trabajos que demuestran el beneficio de la micorriza para la planta contra la incidencia y severidad de hongos patógenos del suelo.

Ejemplos de beneficios se han dado en tomate contra *Fusarium oxysporum* (Caron et al. 1986), *Pseudomonas syringae* y *Erwinia carotovora* (García-Garrido y Ocampo 1988, 1989), y *Corticium rolfsii* (Vargas 1991); en algodón contra *Verticillium dhaliae* (Liu 1995); en fresa contra *Fusarium oxysporum* (Vargas 1991); en alfalfa contra *Verticillium albo-atrum* y *Fusarium oxysporum* (Hwang et al. 1992); en pepino contra *Pythium ultimum* (Rosendahl y Rosendahl 1990).

Actualmente hay experiencias exitosas a nivel de campo empleando formulaciones comerciales de hongos benéficos (*Glomus intraradices* y *Trichoderma harzianum*) antagonistas de *Fusarium oxysporum* que ataca tomate (Dattoff et al. 1995).

Las infecciones radicales por nematodos patógenos son generalmente menores sobre plantas micorrizadas que sobre plantas no micorrizadas, pero la respuesta puede variar, y los mecanismos involucrados son controversiales (Paulitz y Linderman 1991). Trabajos que demuestran el beneficio de la micorriza contra nematodos son presentados por Pinochet et al. (1995a) y Calvet et al. (1995). Otros (Pinochet et al. 1995b) no demuestran dicha reducción de la infección de nematodos.

### Prácticas agrícolas y micorriza

Muchas prácticas de la agricultura moderna convencional, caracterizada por el elevado empleo de insumos, además de resultar en altos rendimientos, han traído consigo inestabilidad para los sistemas agrícolas de producción. Algunas manifestaciones de esto son la contaminación ambiental, la reducción o pérdida total de poblaciones de enemigos naturales de causantes de plagas, la pérdida de fertilidad de los suelos, el surgimiento de nuevas plagas, el descenso de los rendimientos de cosechas, la necesidad de niveles más altos de agroquímicos para mantener los rendimientos, el descenso de los ingresos netos, etc.

Las micorrizas son un agente estabilizador de los agroecosistemas. Las prácticas culturales las afectan de tal forma que pueden contribuir con los rendimientos de los cultivos, o contrarrestarlos. A continuación se mencionan algunas de las prácticas más influyentes.

**Efecto de la labranza del suelo.** El efecto más importante de la labranza en el funcionamiento de la micorriza es el resquebrajamiento de la red de micelio extrarradical (Kurle y Pflieger 1994, Jasper et al. 1989a, b) y la consecuente reducción de su infectividad. Los experimentos de campo de Vivekanadan y Fixen (1991), con el cultivo de maíz, mostraron que en suelo menos disturbado se obtuvo más colonización radical por hongos MA, más rendimiento de materia seca y menor respuesta al P agregado. Los mismos efectos han sido confirmados en invernadero (Evans y Miller 1990).

La ruptura de la red de hifas de hongos MA y saprofitos expone, además, al suelo a la erosión, pues las hifas atrapan los microagregados del suelo (> 0.25 mm diámetro) en macroagregados, contribuyendo a la estabilidad física del suelo. La longitud hifal (m/g) y el volumen total de agregados estables a la acción de agua están relacionados (Miller y Jastrow 1992). Bethlenfalvay (1992) afirma que en el contexto de la agricultura sostenible el mayor potencial de la micorriza puede estar en su capacidad de mejorar la estabilidad del suelo y controlar la erosión.

**Efecto de las quemadas de vegetación y residuos.** Aunque el uso de calor es una forma antigua de esterilizar suelo, investigaciones realizadas en

Costa Rica (Alvarado 1996), han demostrado que la quema de rastrojos, tal como la practican los agricultores en las zonas maiceras y frijoleras, no disminuye cuantitativamente la población de hongos MA ni su infectividad. No obstante es muy posible que los efectos indirectos de las quemadas (mayor erosión y pérdida de fertilidad del suelo, cambio en composición de especies de la cubierta vegetal) sí produzcan cambios que aún no se han estudiado.

**Efecto de la fertilización.** La habilidad de la micorriza para suplir P y otros nutrientes a las plantas es ampliamente conocido. Por el contrario, el efecto de la fertilización en la micorriza no está suficientemente estudiado; se sabe que depende de numerosos factores (Sieverding 1991, Louis y Lim 1988): clase de fertilizante, características del suelo, cultivo, clase de agroecosistema, hongos MA en el suelo, etc.

En general, altos niveles de N y P afectan negativamente el funcionamiento de la micorriza mientras que bajas fertilizaciones con K son benéficas (Kurle y Pflieger 1994). En el ya citado estudio de Vivekanadan y Fixen (1991), el porcentaje de colonización micorrícica descendió en todos los agroecosistemas a consecuencia de agregar 254 kg de P/ha, y la respuesta al P estuvo correlacionada con el porcentaje de colonización. Similares resultados obtuvieron Raznikiewicz et al. (1994), también en campo.

Se sabe que distintas especies MA varían en su respuesta a la fertilización lo que puede resultar en selección de especies poco sensitivas al fertilizante y menos efectivas como mutualistas (Kurle y Pflieger 1994). Diferentes ecotipos dentro de una misma especie MA también pueden responder en forma distinta a incrementos de P agregado (Louis y Lim 1988).

**Efecto de las secuencias de cultivos de las rotaciones.** En primer lugar, puesto que los hongos MA son simbioses obligados, los cultivos no micorrícicos (ej. Brassicae, Chenopodiaceae) hacen descender el número de propágulos infectivos disponibles para el cultivo siguiente. En segundo lugar, aunque se acepta que los MA son generalistas entre las plantas micótrofas, también es cierto que existen asociaciones preferenciales (Sieverding 1991) o especificidad ecológica (Mc Gonigle y Fitter 1990) entre plantas y hongos, lo cual, en situaciones específicas, bene-

ficia unos hongos en detrimento de otros. En estudios hechos en invernadero se ha notado que unas plantas son más fácilmente colonizables que otras por ciertas especies fúngicas y producen más micelio y esporas de hongos MA (Salas 1990) y con alguna frecuencia se nota que ciertos hongos establecen simbiosis con unos hospederos y con otros no.

El efecto de los monocultivos de maíz y soya en la composición de especies MA fue estudiado por Johnson et al. (1992) en dos localidades. Aparentemente cada cultivo seleccionó especies detrimentales para sí mismo y benéficas para el otro cultivo. Ellos formularon la hipótesis de que los monocultivos seleccionan hongos MA que son mutualistas inferiores y que la interrupción del monocultivo (rotación) reduce la abundancia relativa de hongos detrimentales y aumenta la de hongos benéficos.

El descubrimiento de que el hongo *Glomus macrocarpum*, es el causante del achaparramiento (stunting) del tabaco (Modjo y Hendrix 1986) parece ser una demostración de la veracidad de esa hipótesis. La enfermedad ocurre cuando *G. macrocarpum* alcanza niveles de proliferación relativamente altos. Para eliminar el problema, la mejor rotación se da con la gramínea *Festuca arundinacea* (Hendrix et al. 1992) por cuanto es hospedera del endófito *Acremonium coenophialum*, que produce compuestos tóxicos que regulan la población de hongos MA.

**Efecto del uso de variedades mejoradas.** Normalmente las variedades mejoradas muestran menor respuesta a la formación de micorriza en relación con las variedades viejas (Hetrick et al. 1992). Debido a esto, Johnson y Pflieger (1992) llamaron la atención en el sentido de que los programas de mejoramiento que seleccionan variedades altamente rendidoras para condiciones de alta fertilidad, pueden, sin habérselo propuesto, haber seleccionado genotipos de baja respuesta a la micorriza. La tendencia por supuesto puede ser corregida en el futuro.

**Efecto de los plaguicidas.** Puede afirmarse que la tecnología actual para combatir plagas tampoco fue diseñada teniendo en cuenta los microorganismos que no son plagas. Por tanto, también pueden estarse produciendo efectos diversos en las poblaciones de hongos MA, los cuales son desconocidos.

Con la utilización de fumigantes la simbiosis no ocurre y las plantas pueden morir tempranamente o desarrollarse hasta la reproducción, dependiendo de su grado de dependencia micorrízica y de la fertilidad del suelo.

En relación a los fungicidas, la dosis y modo de aplicación son determinantes en su efecto sobre los hongos MA, lo mismo que las especies MA presentes en el suelo. Aunque los informes a veces son contradictorios, a continuación se presenta un resumen de la síntesis presentada por Johnson y Pflieger (1992). Las dicarboximidaz (Captan, captafol) tienen efectos desde detrimentales, a dosis altas o recomendadas, hasta benéficos a dosis bajas. Los ditiocarbamatos (Mancozeb, Maneb, Thiram, Zineb) e hidrocarburos aromáticos (Botran, Chloroneb, Chlortalonil, Lanstan y Quintozene) normalmente reducen el efecto de la micorriza. Entre los sistémicos, Carboxin (Vitavax) reduce, mientras Fosetyl-Al y metalaxil (Ridomil) aumentan la formación de micorriza arbuscular.

Respecto a los fungicidas inhibidores de esteroides, Trimedorph en unos casos incrementó y en otros redujo la colonización, dependiendo de la planta y el tiempo de aplicación, mientras que Propiconazole no afectó la tasa de colonización pero disminuyó 20 veces la absorción de P. El benomyl definitivamente es perjudicial a la MA y tiene la ventaja de que por ser específico para basidiomicetes no extermina otros organismos (Johnson y Pflieger 1992).

Con respecto a los herbicidas, sus efectos pueden ser, sobretodo, indirectos (Dehn et al. 1990).

Por su parte, los nematocidas e insecticidas, a las dosis recomendadas han mostrado efectos favorables en las poblaciones fúngicas MA, posiblemente por su efecto contra competidores y predadores.

## PRODUCCION DE INOCULO

El hecho de que los hongos MA son simbiosiontes obligados representa la mayor dificultad para producir inóculo en cantidades industriales. Esto a su vez ha sido el principal impedimento contra la difusión del uso de los hongos MA entre los productores. El método más común de producir inóculo es por medio de macetas, en suelo esterilizado. Otros medios hacen uso de perlita, turba, corcho, arcilla expandida, sistemas hidropónicos, la técnica de película de nutrientes o cultivo

axénico de órganos de raíz. Safir (1994) cita sólo dos inóculos asequibles comercialmente: Micori Mix de Canadá y Dr. Kikon de Japón. Sieverding (1991) menciona el Manihotina de Colombia. Este mismo investigador propuso como estrategia para abaratar costos que los productores produjeran el inóculo en sus propias fincas, a partir de un iniciador altamente concentrado y viable.

La inoculación puede dar resultados beneficiosos cuando el suelo es pobre en calidad o cantidad de hongos MA y las plantas responden en forma significativa a la micorrización o cuando se esteriliza total o parcialmente el medio. La mayor viabilidad económica de inocular, sin duda se presenta en cultivos que tienen una fase de semillero o vivero (árboles, hortalizas), en la cual los costos de inoculación son menores y la colonización de las raíces por los hongos introducidos, una vez establecida, puede mantenerse y desarrollarse en las fases posteriores del cultivo. Un ejemplo rentable lo constituyó, el empleo de inoculante en el semillero de café, a nivel experimental (Siqueira et al. 1993), lo que a la postre generó un ingreso adicional de US \$400/ha/año durante los primeros 3 años de producción.

## EXPERIENCIAS CON MICORRIZAS EN COSTA RICA

### Ectomicorrizas

Las ectomicorrizas se empezaron a usar en Costa Rica para la inoculación de coníferas exóticas (Vega 1964) que no crecían adecuadamente en el suelo natural. En este caso se empleó como inóculo suelo de bosque de coníferas traído de Honduras.

Algunos años después Chaverri y Rojas (1986), observaron un problema similar en arbolitos de *Quercus* spp. que resolvieron inoculando con carpóforos de los géneros *Lactarius* sp. y *Andropogon* sp. colectados en un robledal natural. Además, la combinación de las cepas nativas de hongos provenientes del suelo del robledal, dieron el tercer mejor resultado en crecimiento y el mejor porcentaje de infección de las raíces (Rojas y Chaverri 1992).

Datos de 1991 (Rojas y Chaverri 1991) muestran que el 69% de los viveristas cosechan fructificaciones de *Pisulithus tinctorius* y las aplican a las plantas mediante suspensión en agua.

Por otro lado, en la actualidad se está ejecutando en la Universidad de Costa Rica, el proyecto denominado "Agaricales de los bosques de *Quercus* spp. de Costa Rica", cuyos objetivos incluyen la morfología, ecología, distribución y cultivo de agaricales seleccionados.

### Micorrizas arbusculares

**Aislamientos.** El proyecto de Hongos MA de la Universidad Nacional ha aislado hongos MA nativos y producido cultivos monoespecíficos provenientes de agroecosistemas hortícolas de Cot de Cartago y Barva de Heredia, de la rotación maíz-frijol de Pejibaye de Pérez Zeledón, y de plantaciones bananeras de Pococí. Las esporas se separaron de la suspensión de suelo usando una solución de sucrosa 50%, se agruparon por sus semejanzas y luego se colocaron en las raíces de plantitas de *Brachiaria decumbens* para inducir la infección. Las plantas se sembraron en macetas con suelo esterilizado. Cuando los aislamientos eran exitosos se revisaba su pureza, se reproducía nuevamente y se almacenaba el inóculo seco al aire (suelo, raíces infectadas, micelio y esporas), para su identificación taxonómica posterior.

Se efectuaron cerca de 100 aislamientos en total, de las especies listadas en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Aislamientos existentes en la colección viva de hongos MA de la Universidad Nacional.

Aislamiento	Nombre científico	Procedencia
CR-C-1-1	<i>Acaulospora appendicula</i>	Cot, Cartago
CR-C-1-3	<i>A. appendicula</i>	Cot, Cartago
CR-C-1-2	<i>Scutellispora calospora</i>	Cot, Cartago
CR-C-1-5	<i>Gigaspora ramisporophora</i>	Cot, Cartago
CR-C-1-6	<i>G. ramisporophora</i>	Cot, Cartago
CR-C-1-10	<i>Acaulospora</i> sp.	Cot, Cartago
CR-C-1-11	<i>Scutellispora</i> sp.	Cot, Cartago
CR-C-1-12	<i>Scutellispora</i> sp.	Cot, Cartago
CR-C-1-14	<i>Scutellispora</i> sp.	Cot, Cartago
CR-C-1-15	<i>Scutellispora</i> sp.	Cot, Cartago
CR-C-2-20	<i>Glomus</i> sp.	Cot, Cartago
CR-C-2-21	<i>Glomus</i> sp.	Cot, Cartago
CR-PZ-1-1	<i>Glomus</i> sp. nov.	Pérez Zeledón
CR-PZ-1-2	<i>G. albidum</i>	Pérez Zeledón
CR-PZ-3-1	<i>G. maculosum</i>	Pérez Zeledón
CR-PZ-4-1	<i>G. maculosum</i>	Pérez Zeledón
CR-PZ-5-1	<i>G. maculosum</i>	Pérez Zeledón
CR-G-1	<i>A. mellea</i>	Guácimo
CR-G-2	<i>G. albidum</i>	Guácimo
CR-SL-2-4	—	Santa Lucía, Barva
CR-SL-2-5	—	Santa Lucía, Barva

**Producción de cultivos puros.** Debido a que los hongos MA son simbioses obligados tienen que multiplicarse en sustratos con una planta hospedera. Con el fin de aumentar el porcentaje de aislamientos exitosos se escogieron dos hospederos (*Brachiaria decumbens* y *Cajanus bicolor*) para ser evaluados en dos niveles de P (0 y 40 kg de P/ha), empleando esporas de poblaciones nativas de Pérez Zeledón. Las esporas fueron agrupadas de acuerdo a sus características, y se escogieron 6 grupos (especies putativas), que fueron inoculados después de realizarles pruebas de viabilidad con el uso de un colorante especial (MTT). De los 6 grupos, 3 tuvieron 100% de reproducciones exitosas en todos los tratamientos, uno no se reprodujo en ninguno, otro se reprodujo sólo en *B. decumbens* y otro sólo en *C. bicolor*; el nivel de P afectó según la especie fúngica (Gutiérrez 1996 sin publicar).

El Cuadro 2 contiene la lista de cultivos mono-específicos que se mantienen en el cepario de hongos MA de la Universidad Nacional.

**Producción de inóculo.** Dada la necesidad de producir inóculo para uso experimental y comercial también se efectuó un experimento para comparar la habilidad de cinco hospederos (*Capsicum annum*, *Cajanus cajan*, *Allium porrum*, *Zea mays*, *Cucumis sativus*). El maíz fue la especie que indujo una mayor esporulación de los hongos, además el porcentaje de colonización de sus raíces estuvo entre los mejores y fue la que produjo un sistema radical más denso (Salas 1990).

Por otro lado, el proyecto de Hongos MA de la Universidad Nacional inició, en 1995, experiencias para producir inóculo en finca, pero los resultados no han sido evaluados.

**Descripción de especies.** Hasta hoy, los hongos MA se identifican por las siguientes características: color, morfología, número y grosor de las paredes de la espora, forma de conexión hifal y ornamentación de las esporas. En Costa Rica no existen taxónomos que realicen este trabajo, por lo cual se ha recurrido a especialistas extranjeros. Ewald Sieverding identificó la mayoría de las especies listadas en el Cuadro 2, además de *Acaulospora* sp., *A. rugosa*, *Entrophospora infrequens*, *Glomus* sp., *G. dominikii*, *G. fulvum*, *G. geosporum*, *G. albidum*, *G. clarum*, *G. microaggregatum*, *G. versiforme*, *Scutellospora*

*heterogama* y *S. pellucida*, encontrados en suelos de Hojancha y Santa Cruz de Guanacaste, que componían la población nativa usada en una tesis de maestría (Rojas 1992) y *Glomus brohultii*, *G. geosporum*, *G. mosseae*, *Entrophospora colombiana*, *Acaulospora scrobiculata*, *A. rugosa*, *A. longula*, *Acaulospora* sp. nov., *A. apendiculata*, *A. rehmii*, mencionadas por Vargas (1990), de suelos de Monteverde de Puntarenas. Una especie nueva, *Acaulospora splendida*, también fue descrita en Costa Rica (Sieverding et al. 1988). Otro colaborador ha sido Roberto Ferrer, quien identificó *Acaulospora mellea* y *G. albidum*, (Arias et al. 1996) de agroecosistemas bananeros de Pococí y *Glomus albidum*, *G. maculosum* y *Glomus* sp. nov. (Gutiérrez 1996 sin publicar) en agroecosistemas de rotación frijol-maíz de Pejibaye de Pérez Zeledón.

**Efectividad de aislamientos.** La efectividad de cepas foráneas ha sido evaluada por Salas (1990) en maíz, chile dulce, pepino, puerro y gandul y por Rojas (1992) en *Tectona grandis*, *Leucaena leucocephala* y *Albizia guachapelle*, mientras que los aislamientos nativos se han evaluado en maíz y chile dulce, tomate y lechuga (Alpízar 1996 sin publicar), cítricos (Jiménez y Blanco 1996) y vitroplantas de banano (Arias et al. 1996). A la vez se ha evaluado el efecto de diferentes niveles de P y la adición de un abono orgánico (Alpízar 1996 sin publicar).

**Efectividad de poblaciones nativas.** Blanco y Rowe (1994) estudiando las diferencias de efectividad de 31 poblaciones nativas, encontraron desde poblaciones muy ineficientes hasta muy eficientes para promover el crecimiento del frijol gandul (planta obligadamente dependiente). Fonseca (1995, sin publicar) demostró que diferentes prácticas de fertilización y manejo de sombra en una plantación de café afectan la cantidad de propágulos infectivos de hongos MA, la efectividad de los mismos y la composición de especies de la población. De igual forma Alvarado (1996) encontró diferencias de efectividad entre poblaciones pero demostró que la quema de rastrojos no afecta la efectividad de las poblaciones nativas de hongos MA para promover el crecimiento de frijol y maíz. Además, encontró que la mayor efectividad de la micorriza para promover el crecimiento del frijol se asocia con mayor incidencia del virus del mosaico del frijol.

**Estudios sobre micorrizas en el campo.** Solamente se informan 2 trabajos realizados a nivel de campo en Costa Rica que evalúan la efectividad de la inoculación de una especie MA efectiva. De ellos, uno se realizó sin fumigar el suelo, inoculando *G. manihotis* a parcelas de frijol no fertilizadas o fertilizadas con superfosfato triple o roca fosfórica; no observaron mejoras en los rendimientos. En el otro se comparó la micorriza nativa con *G. manihotis* aplicado después de fumigar el suelo (Bermúdez et al. 1993); el tratamiento que dió mas materia seca y nodulación se obtuvo con *G. manihotis* en suelo esterilizado.

### LINEAS FUTURAS DE INVESTIGACION RECOMENDADAS PARA COSTA RICA

Aceptando la potencialidad de la micorriza como reguladora del sistema planta-suelo, se proponen líneas de investigación en dos grandes áreas de aplicación de la tecnología sobre micorrizas: semilleros y viveros de un lado y cultivos extensivos de otro.

- a) Para ambas áreas se necesita una colección numerosa de aislamientos puros, con buena viabilidad, que estén clasificados y disponibles para investigadores. En este sentido es fundamental mantener y aumentar la colección ya existente en la Universidad Nacional (UNA).
- b) Es previsible que el mayor impacto benéfico, a corto plazo, en cuanto a rendimientos, control de enfermedades, disminución de tasa de agroquímicos (incluso cultivos orgánicos), costos, etc., se puede conseguir optimizando el desempeño de la micorriza en semilleros y viveros, ya sea por inoculación de hongos eficientes (y otros microorganismos) o por el empleo de prácticas culturales favorables a éstos y al cultivo. Mediante un buen manejo, el efecto de la micorriza en la planta puede perpetuarse y multiplicarse cuando se transplanta. Esta perspectiva contempla numerosas posibilidades de investigación. Debe tenerse consciencia de que, algunas prácticas realizadas en estos sistemas propician el uso de las micorrizas (ej. esterilización de suelo) y otras lo limitan (ej. alto nivel de agroquímicos).

- c) La utilización de micorrizas en cultivos extensivos es más complicada que en viveros y semilleros, pero los beneficios pueden ser mayores a mediano o largo plazo. Algunas líneas de investigación son:
  - Identificación (y producción por mejora genética) de cultivares de alta respuesta a la micorriza en condiciones de bajo insumo.
  - Estudio del efecto de rotaciones en el funcionamiento de las poblaciones MA (y de otros microorganismos y de la mejora global del sistema planta-suelo).
  - Estudio de asociaciones preferenciales planta-hongo, y su empleo para rediseñar las poblaciones MA en campos agrícolas. Entre las plantas podrían considerarse también las malas hierbas.
  - Producción de inóculo a nivel artesanal o industrial.

### RECONOCIMIENTO

Esta publicación es un producto del proyecto 90-352, denominado "Evaluación de poblaciones nativas de hongos MA y selección de cepas eficientes para uso agrícola y forestal", parcialmente financiado por el programa CONICIT-BID.

### LITERATURA CITADA

- ALVARADO, G.L. 1996. Efecto de la quemada sobre las micorrizas vesículo arbusculares en sistemas de relevo frijol-maíz en un ultisol de Pérez Zeledón. Tesis, Lic. Heredia, Costa Rica. Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional. 71 p.
- ALLEN, E.B.; ALLEN, M.F.; HELM, D.J.; TRAPPE, J.M.; MOLINA, R.; RINCON, E. 1995. Patterns and regulation of mycorrhizal plant and fungal diversity. In The significance and regulation of soil biodiversity. Ed. By H.P. Collins, G.P. Robertson and M.J. Klug. Netherlands, kluwer. p. 47-62.
- AZCON-AGUILAR, C.; BAREA, J.M. 1992. Interactions between mycorrhizal fungi and other rhizosphere microorganisms. In: Mycorrhizal functioning and integrative Plant-Fungal Process. Ed. by M.F. Allen. Chapman and Hall, New York. p. 163-198
- BENTIVENGA, S.P.; MORTON, J.B. 1994. Systematics of Glomalean endomycorrhizal fungi: current views and future directions. In Mycorrhizae and plant health. Ed. F.L. Pfeleger and R.G. Linderman. Minnesota, APS Press. p. 283-308.

- BERMUDEZ, M.; CASTRO, B.L.; AZCON, R. 1993. Efecto de la aplicación de roca fosfórica y la inoculación con micorrizas vesículo-arbusculares sobre el crecimiento del frijol (*Phaseolus vulgaris*) en un ultisol de Costa Rica. In IX Congreso Nacional Agronómico y de Recursos Naturales. Resúmenes. Vol.II-(2). San José, Costa Rica. Colegio de Ingenieros Agrónomos de Costa Rica. p. 203.
- BETHLENFALVAY, G.J. 1992. Mycorrhizae in the agricultural plant-soil system. *Symbiosis* 14:413-425.
- BETHLENFALVAY, G.J.; LINDERMAN, R.G. 1992. Preface. In *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. Ed. by G.J. Bethlenfalvay and R. G. Linderman. Madison, Wisconsin, USA. ASA Special Publication Number 54. p. 45-70.
- BLANCO, F.; ROWE, H. 1994. Efectividad de 31 poblaciones nativas de hongos formadores de micorrizas vesículo-arbusculares (MVA). In Reunión Anual de la Sociedad del Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de Cultivos y Animales. San José, Costa Rica. p. 23.
- CALVET, C.; PINOCHET, J.; CAMPRUBI, A.; FERNANDEZ, C. 1995. Increased tolerance to the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* in mycorrhizal micropropagated BA-29 quince rootstock. *Mycorrhiza* 5:253-258.
- CARON, M.; FORTIN, J.A.; RICHARD, C. 1986. Effect of phosphorus concentration and *Glomus intraradices* on *Fusarium* crown and root rot of tomatoes. *Phytopathology* 76:942-946.
- CHAVERRI, A.; ROJAS, I. 1986. Ensayo de inoculación de plantas de roble copey (*Quercus copeyensis* Muller) con suelo micorrízico en condiciones de invernadero. In Ciclo lectivo sobre técnicas de investigación en micorrizas. Fundación Internacional para la Ciencia y CATIE. 18-28 setiembre 1985. Turrialba, Costa Rica. Fundación Internacional para la Ciencia, Estocolmo, Suecia. P. 11-130.
- CLEMENT, C.R.; HABTE, M. 1995. Genotypic variation in vesicular-arbuscular mycorrhizal dependence of the pejobaye palm. *Journal of Plant Nutrition* 18(9):1907-1916.
- DATNOFF, L.E.; NEMEC, S.; PERNEZNY, K. 1995. Biological control of *Fusarium* crown and root rot of tomato in Florida using *Trichoderma harzianum* and *Glomus intraradices*. *Biological Control* 5:427-431.
- DEHN, B.; BODMER, M.; SSCHUEPP, H. 1990. Influence of herbicides on VA mycorrhizal propagation in soil. *Symbiosis* 9:223-227.
- DI, J.J.; ALLEN, E.B. 1991. Physiological responses of 6 wheatgrass cultivars to mycorrhizae. *Journal of Range Management* 44(4):336-341.
- EVANS, D.G.; MILLER, M.H. 1990. The role of external mycelial network in the effect of soil disturbance upon vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization in maize. *New Phytol.* 114:65-71.
- FINLAY, R.; SÖDERSTRÖM B. 1992. Mycorrhiza and carbon flow to the soil. In *Mycorrhizal Functioning. An Integrative Plant-Fungal Process*. Ed. by M.F. Allen. Chapman and Hall, New York p. 134-162.
- GARBAYE, J. 1991. Biological interactions in the mycorrhizosphere. *Experientia* 47:370-375.
- GARBAYE, J. 1994. Les bactéries auxiliaires de la mycorrhization: une nouvelle dimension de la symbiose mycorrhizienne. *Acta bot. Gallica* 141(4):517-521.
- GARCIA-GARRIDO, J.M.; OCAMPO, J.A. 1988. Interaction between *Glomus mosseae* and *Erwinia carotovora* and its effects on the growth of tomato plants. *New Phytol.* 110:551-555.
- GARCIA-GARRIDO, J.M.; OCAMPO, J.A. 1989. Effect of VA mycorrhizal infection of tomato on damage caused by *Pseudomonas syringae*. *Soil Biol. Biochem.* 21(1):165-167.
- GERDEMANN, J.W. 1968. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Ann. Review Phytopathology* 6:394-418.
- HASS, J.H.; BAR-YOSEF, B.; KRIKUN, J.; BARAK, R.; MARKOVITZ, T.; KRAMER, S.S. 1987. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus infestation and phosphorus fertigation to overcome pepper stunting after methyl bromide fumigation. *Agronomy Journal* 79(5):905-910.
- HENDRIX, J.W.; JONES, K.J.; NESMITH, W.C. 1992. Control of pathogenic mycorrhizal fungi in maintenance of soil productivity by crop rotation. *J. Prod. Agric.* 5:383-386.
- HETRICK, B.A.D.; WILSON, G.W.T.; COX, T.S. 1992. Mycorrhizal dependence of modern wheat varieties, landraces, and ancestors. *Can. J. Bot.* 70:2032-2040.
- HWANG, S.F.; CHANG, K.F.; CHAKRAVARTH, P. 1992. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the development of *Verticillium* and *Fusarium* wilts of alfalfa. *Plant Dis.* 76:239-243.
- ISOPI, R.; FABBRI, P.; DEL GALLO, M.; PUPPI, G. 1995. Dual inoculation of *Sorghum bicolor* (L.) Moench ssp. *bicolor* with vesicular arbuscular mycorrhizas and *Acetobacter diazotrophicus*. *Symbiosis* 18:43-55.
- JANOS, D.P. 1980. Mycorrhizal influence tropical succession. *Biotropica* 12 (suppl.): 56-64.
- JASPER, D.A.; ABBOTT, L.K.; ROBSON, A.D. 1989. Soil disturbance reduces the infectivity of external hyphal of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 112:93-99.

- JOHANSEN, A.; JAKOBSEN, I.; JENSSEN, E.S. 1994. Hyphal N transport by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus associated with cucumber grown at three nitrogen levels. *Plant and Soil* 160:1-9.
- JOHNSON, N.C.; PFLEGER, F.L. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and cultural stresses. In *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. Ed. G.J. Bethlenfalvai and R. G. Linderman. Madison, Wisconsin, USA. ASA Special Publication Number 54. P. 701-99.
- JOHNSON, N.C.; COPELAND, P.J.; CROOKSTON, R.K.; PFLEGER, F.L. 1992. Mycorrhizae: possible explanation for yield decline with continuous corn and soybean. *Agronomy Journal* 84(3):387-390.
- KAISER, P.A.; LUSSENHOP, J. 1991. Collembola effects on establishment of vesicular-arbuscular mycorrhizae in soybean (*Glycine max*). *Soil Biol. Biochem.* 23(3):307-308.
- KURLE, J.E.; PFLEGER, F.L. 1994. The effects of cultural practices and pesticides on VAM fungi. In *Mycorrhizae and plant health*. Ed. F.L. Pfeleger and R.G. Linderman. Minnesota APS Press. p. 101-132.
- LINDERMAN, R.G. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions. In *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. Ed. G.J. Bethlenfalvai and R. G. Linderman. Madison, Wisconsin, USA. ASA Special Publication Number 54. p. 45-70.
- LIU, R.J. 1995. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on *Verticillium* wilt of cotton. *Mycorrhiza* 5:293-297.
- LOUIS, I.; LIM, J. 1988. Differential response and growth and mycorrhizal colonization on soybean to inoculation with two isolates of *Glomus claram* in soils of different P availability. *Plant and Soil* 112:37-43.
- LYNCH, M.; WHIPPS, J.M. 1990. Substrate flow in the rhizosphere. *Plant and Soil* 129:1-10.
- MCGONIGLE, T.T.; FITTER, A.H. 1990. Ecological specificity of vesicular-arbuscular mycorrhizal association. *Mycological Research* 94(1):120-122.
- MILLER, R.M.; JASTROW, J.D. 1992. The role of mycorrhizal fungi in soil conservation. In *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. Ed. by G.J. Bethlenfalvai and R. G. Linderman. Madison, Wisconsin, USA. ASA Special Publication Number 54. P. 29-44.
- MILLER, R.M.; REINHARDT, D.R.; JASTROW, J.D. 1995. External hyphal production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in pasture and tallgrass prairie communities. *Oecologia* 103:17-23.
- MODJO, H.S.; HENDRIX, J.W. 1986. The mycorrhizal fungus *Glomus macrocarpum* as a cause of tobacco stunt disease. *Phytopathology* 76(7):688-691.
- PAULITZ, T.C.; LINDERMAN, G. 1991. Mycorrhizal interactions with soil organisms. In *Handbook of applied mycology. Volume 1: Soil and Plants*. Ed. by D. K. Arora, B. Rai, K. G. Mukerji, G. R. Knudsen. New York. Marcel Dekker. p. 129.
- PINOCHET, J.; CALVET, C.; CAMPRUBI, A.; FERNANDEZ, C. 1995a. Interaction between the root-lesion nematode *Pratylenchus vulnus* and the mycorrhizal association of *Glomus intraradices* and Santa Lucia 64 cherry rootstock. *Plant and Soil* 170:323-329.
- PINOCHET, J.; CALVET, C.; CAMPRUBI, A.; FERNANDEZ, C. 1995b. Growth and nutritional response of Nemared peach rootstock infected with *Pratylenchus vulnus* and the mycorrhizal fungus *Glomus nosseae*. *Fundam. Appl. Nematol* 18(3):205-210.
- RABATIN, S.C.; STINNER, B.R. 1989. The significance of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal-soil macroinvertebrate interactions in agroecosystems. *Agric. Ecosystems Environm.* 27:195-204.
- RAZNIKIWICZ, H.; CARLGREN, K.; MARTENSSON, A. 1994. Impact of phosphorus fertilization and liming on the presence of arbuscular mycorrhizal spores in a Swedish long-term field experiment. *Swedish J. agric. Res.* 24:157-164.
- ROJAS, I.M. 1992. Efecto de la micorrización sobre el crecimiento de tres especies forestales en dos suelos de Guanacaste, Costa Rica. Tesis Maestría. Universidad de Costa Rica. 73 p.
- ROJAS, I.; CHAVERRI, A. 1991. Prácticas de inoculación ectomicorrícica en plántulas de pino en viveros en Costa Rica. *Ciencias Ambientales* 8:3-9.
- ROJAS, I.; CHAVERRI, A. 1992. Efecto de la inoculación ectomicorrícica con carpóforos sobre el desarrollo de plántulas de *Quercus costarricensis*. In *Congreso Forestal Nacional*. (2, 1992). San José, Costa Rica. Resúmenes. LIL. p. 24-25.
- ROSENDAHL, C.N.; ROSENDAHL, S. 1990. The role of vesicular-arbuscular Mycorrhiza in controlling damping-off and growth reduction in cucumber caused by *Pythium ultimum*. *Symbiosis* 9:363-366.
- SAFIR, G.R. 1994. Involvement of cropping systems, plant produced compounds and inoculum production in the functioning of VAM fungi. In *Mycorrhizae and plant health*. Ed. by F.L. Pfeleger and R.G. Linderman. Minnesota. APS Press. p. 239-260.
- SALAS, E. 1990. Selección de plantas hospederas para la reproducción de hongos formadores de micorrizas vesículo arbusculares (MVA), en macetas. Tesis. Lic. Heredia, Costa Rica. Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional. 94 p.

- SEMPAVALAN, J.; WHEELER, C.T.; HOOKER, J.EE. 1995. Lack of competition between Frankia and Glomus for infection and colonization of roots of *Casuarina equisetifolia* (L.). *New Phytol.* 130:429-436.
- SIEVERDING, E. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhizal management in tropical agrosystems. Technical Cooperation, Federal Republic of Germany. 371 p.
- SIEVERDING, E.; CHAVERRI, A.; ROJAS, I. 1988. *Acaulospora splendida*, a new species in the Endogonaceae from Costa Rica. *Mycotaxon* 33:251-256.
- SIQUEIRA, J.O.; COLOZZI-FILHO, A.; SAGGIN-JUNIOR, O.J.; GUIMARAES, P.T.G.; OLIVEIRA, E. 1993. Crescimento de mudas e producao do cafeeiro sob influencia de fungos micorrizicos e superfosfato. *R. Bras. Ci. Solo*, Campinas 17(1):53-60.
- VARGAS, R. 1990. Micorrizas vesículo arbusculares aisladas del bosque nuboso, Monteverde, Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 14(1):85-88.
- VARGAS, R. 1991. Combate de *Corticium* en tomate y *Fusarium* en fresa, mediante el uso de microorganismos antagonistas y/o hongos endomicorrizógenos (MVA). *Agronomía Costarricense* 15(1/2):1-6.
- VEGA, L. 1964. Efecto de las micorrizas en el crecimiento inicial de coníferas tropicales. *Turrialba* 14(3):151-155.
- VIVEKANADAN, M.; FIXEN, P.E. 1991. Cropping systems effects on mycorrhizal colonization, early growth, and phosphorus uptake of corn. *Soil Science Society of America Journal* 55(1):136-140.
- YOUNG, C.C. 1990. Effects of phosphorus-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of tree species in subtropical-tropical soils. *Soil Sci. Plant Nutr.* 36(2):225-231.