

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”**

**UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**



**MICORRIZAS VESÍCULO ARBUSCULARES (MVA)**

**P O R**

**ÁNGEL LÓPEZ FABIÁN**

**M O N O G R A F Í A**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER  
EL TÍTULO DE:**

**INGENIERO EN AGROECOLOGÍA**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.**

**MAYO DEL 2010**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**

**MICORRIZAS VESÍCULO ARBUSCULARES (MVA)**

**P O R**

**ÁNGEL LÓPEZ FABIÁN**

**MONOGRAFÍA**

**QUE SE SOMETE A CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ DE ASESORES,  
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**INGENIERO EN AGROECOLOGÍA**

**COMITÉ PARTICULAR**

**Asesor  
principal:**

  
\_\_\_\_\_  
**M. C. GENOVEVA HERNÁNDEZ ZAMUDIO**

**Asesor :**

  
\_\_\_\_\_  
**M. C. MARÍA DE JESÚS RIVERA GONZÁLEZ**

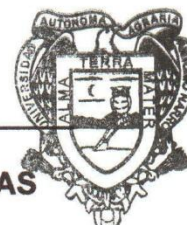
**Asesor :**

  
\_\_\_\_\_  
**M. C. EDUARDO BLANCO CONTRERAS**

**Asesor:**

  
\_\_\_\_\_  
**M. C. GERARDO ZAPATA SIFUENTES**

  
\_\_\_\_\_  
**M. E. VÍCTOR MARTÍNEZ CUETO  
COORDINADOR DE CARRERAS AGRONÓMICAS**



**Coordinación de la División de  
Carreras Agronómicas**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.**

**MAYO del 2010**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA**

**DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**

**MICORRIZAS VESÍCULO ARBUSCULARES (MVA)**

**P O R**

**ÁNGEL LÓPEZ FABIÁN**

**MONOGRAFÍA**

**QUE SE SOMETE A CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR,  
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**INGENIERO EN AGROECOLOGÍA**

**APROBADA POR:**

**PRESIDENTE:**

  
M. C. GENOVEVA HERNÁNDEZ ZAMUDIO

**VOCAL:**

  
M. C. MARÍA DE JESÚS RIVERA GONZÁLEZ

**VOCAL:**

  
M. C. EDUARDO BLANCO CONTRERAS

**VOCAL:**

  
M. C. GERARDO ZAPATA SIFUENTES

  
M. E. VÍCTOR MARTÍNEZ CUETO  
COORDINADOR DE CARRERAS AGRONÓMICAS



**Coordinación de la División de  
Carreras Agronómicas**

**TORREÓN, COAHUILA, MÉXICO.**

**MAYO del 2010**

## **AGRADECIMIENTOS**

**A Dios:** Primeramente, creador del universo y dueño de mi vida que me permite construir otros mundos mentales posibles. Antes y sobre todas las cosas, por darme salud, por cuidar y guiarme por buen camino. Además haberme permitido llegar hasta este momento tan especial de mi vida, para lograr mis objetivos.

**A mis padres:** aquellos incansables padres que desde que era pequeño me han guiado y acompañado en los momentos en que más los he necesitado.

**A mis hermanos:** que son mis ojos y no puedo sino darle las gracias por el tiempo, por entender las veces en que no pude estar con ellos, pero sobre todo por el inmenso amor que siento de su parte.

**A mi Universidad “ALMA TERRA MATER”:** que siempre llevaré su nombre en alto, por la oportunidad que me brindó en formarme como profesionalista al culminar satisfactoriamente mis estudios.

Con todo respeto a la **M. C. Genoveva Hernández Zamudio**, por su predisposición permanente e incondicional en aclarar mis dudas y por sus substanciales sugerencias durante la redacción de esta monografía, ya que su

esfuerzo y dedicación, sus conocimientos, sus orientaciones, su manera de trabajar, su persistencia, su paciencia y su motivación han sido fundamentales para mi formación como profesionista.

A la **M. C. María de Jesús Rivera González**, por su cariño y buena voluntad, pero sobre todo por su valiosa y fundamental ayuda y colaboración para la realización de esta investigación.

Al **Dr. Eduardo Blanco Contreras**, por su apoyo que me brindó, sus consejos, su amistad y sobre todo por el hecho de compartir sus conocimientos y su valiosa participación en este trabajo.

Al **M. C. Gerardo Zapata Sifuentes** por su amistad, consejos y por su participación y apoyo incondicional, así como en sus observaciones críticas en la redacción de este trabajo.

También me gustaría agradecer los consejos recibidos a lo largo de toda la carrera por otros profesores que de una u otra manera han aportado su granito de arena para mi formación, en especial a los del departamento de Agroecología.

A todos ellos les agradezco su trato humano y su visión crítica de muchos aspectos cotidianos de la vida, que ayudan a formarnos como persona y como profesional.

Agradezco también a mi gran amigo **Faustino Morales Castellanos**, por su gran amistad, apoyo, y consejos que en todo momento me brindó; de igual manera a mi novia por su exigencia, ayuda y admiración.

A mis amigos César, Maximino, Artemio y Gabino por su amable confianza e incondicional apoyo que me brindaron durante el lapso de la realización de esta monografía.

Y por último, pero no menos importante, estaré eternamente agradecido con todos mis amigos de la generación, por sus cariños y apoyos, por mencionar algunos, Franklin A. (chavito), Alexis G. (gato), Juan C. (calín), Jorge L. (niño), Francisco (colocho), Emmanuel (hijín), Jesús E. (lacho), Gadiel (sapo viejo), Ramón F. (ojón), etc. por la confianza y la gran amistad que me brindaron, que por medio de las discusiones y preguntas, me hicieron crecer en conocimiento.

## DEDICATORIAS

En especial a **mis excelentes padres:** la Sra. Angélica Juana Fabián Cruz y el Sr. Rodrigo López Fabián con mucho cariño y amor, por todos los buenos deseos, grandes consejos y apoyo que me brindaron y que siempre lo harán, me han enseñado a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi perseverancia, mi empeño y todo ello con una gran dosis de amor y sin pedir nunca nada a cambio; ellos me llenaron por dentro para conseguir un equilibrio que me permitió dar al máximo de mí, GRACIAS PAPÁS, “los quiero con todo mi corazón”, todo mi trabajo va dedicado a ustedes.

**A mis hermanos:** Tobías, Rodrigo, Donald, Uziel y Alma Miriam, por su paciencia, su comprensión, su fuerza, su amor, gracias por estar conmigo y apoyarme siempre, los quiero mucho.

A la memoria de mi hermanita **Elizabeth** (†) (QPD), que aunque físicamente no se encuentra a mi lado sé que desde el cielo me ha guiado, me ha dado fuerza para no desfallecer y seguir firme en mi fe en reunirme algún día con ella en el mismo lugar celestial.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	iv
<b>DEDICATORIAS</b> .....	vii
<b>ÍNDICE DE CONTENIDO</b> .....	viii
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	xi
<b>RESUMEN</b> .....	xii
<b>PALABRAS CLAVES</b> .....	xii
<b>ABSTRACT</b> .....	xiii
<b>KEYWORDS</b> .....	xiii
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>1.1 OBJETIVO</b> .....	3
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	4
<b>2.1 EVOLUCIÓN DE LAS MICORRIZAS ARBUSCULARES</b> .....	4
<b>2.2 DESARROLLO DE LA SIMBIOSIS DE LAS MICORRIZAS ARBUSCULARES (MECANISMO DE COLONIZACIÓN)</b> .....	5



2.2.1 Primeros eventos de señalización .....	5
2.2.2 Formación del apresorio .....	8
2.2.3 Penetración de la raíz.....	10
2.2.4 Crecimiento interno y desarrollo de arbusculos en micorrizas del género <i>Arum</i> .....	15
2.2.5 El micelio externo .....	16
<b>2.3 DIÁLOGO PRESIMBIÓTICO – RECONOCIMIENTO Y ANTICIPACIÓN .....</b>	<b>18</b>
2.3.1 Respuesta del hongo hacia la planta - señales derivadas.....	18
2.3.2 Respuesta de la planta hacia el hongo – señales derivadas .....	22
<b>2.4 FASE SIMBIÓTICA TEMPRANA – CONTACTO Y PENETRACIÓN .....</b>	<b>23</b>
2.4.1 Desarrollo de apresorios.....	23
2.4.2 La vía SYM común .....	24
2.4.3 Propagación apoplástica del hongo .....	25
<b>2.5 FASE SIMBIÓTICA MADURA – HAUSTORIO Y NUTRICIÓN MINERAL.....</b>	<b>26</b>
2.5.1 Desarrollo del arbusculo.....	26
2.5.2 Adquisición de nitrógeno y fosfato simbiótico.....	29

<b>2.6 SEÑALES ANTES DE LA INTERACCIÓN FÍSICA ENTRE LOS SIMBIONTES .....</b>	<b>31</b>
2.6.1 Evidencia de que los hongos perciben señales de las plantas ...	31
2.6.2 Evidencia de que las plantas perciben señales de hongos de micorrizas arbusculares.....	35
<b>2.7 LA FASE ENDOSIMBIÓTICA .....</b>	<b>37</b>
2.7.1 Evidencia de señales para la formación de apresorios.....	37
2.7.2 Vías de señalización de la simbiosis identificada en leguminosas .....	39
<b>2.8 INFLUENCIA DE LAS MICORRIZAS ARBUSCULARES EN LA ABSORCIÓN DE FÓSFORO POR LA PLANTA .....</b>	<b>41</b>
<b>2.9 IMPORTANCIA PARA EL ECOSISTEMA.....</b>	<b>43</b>
<b>2.10 LAS MICORRIZAS ARBUSCULARES COMO ALTERNATIVA PARA UNA AGRICULTURA SUSTENTABLE.....</b>	<b>45</b>
<b>III. CONCLUSIONES .....</b>	<b>48</b>
<b>IV. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>50</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1.- Colonización de las raíces por hongos MA.....	16
Figura 2.- Las etapas de colonización de las raíces por un hongo micorrízico arbuscular (MA). (a) Ramificación de hifas; (b) expresión génica, (c) formación apresorios y el paso a través de las capas exteriores de las células de la raíz; (d) hongos apoplásticos de propagación longitudinal y (e) formación de arbusculos en la corteza interna. ....	22
Figura 3.- Intercambio de señales entre la raíz y los hongos MA antes de su interacción física. Cuando el tubo del germen de los hongos llega alrededor de la raíz, una señal de los exudados de la raíz de la planta (amarilla) provoca un aumento en la actividad respiratoria en el hongo y la ramificación intensa de las hifas. Una señal difusible de las hifas de los hongos (flechas rojas) activa la expresión génica en la raíz de la planta (sombreado en azul). ....	37

## RESUMEN

El déficit de agua es considerado uno de los factores abióticos que limitan el crecimiento de las plantas y el rendimiento en muchas áreas de la tierra. Por ende los efectos en la hidratación del tejido y la fisiología de la planta. Las MA, son una simbiosis entre las plantas y los miembros de un phylum antiguo de hongos, *Glomeromycota*, que mejoran el suministro de agua y nutrientes, como el fosfato y nitrógeno, en la planta huésped. La simbiosis MA es la asociación entre hongos de la orden de Glomales (*Zygomycetes*) y las raíces de las plantas terrestres. Según estimaciones, indican que esta simbiosis antigua, data de principios de años de la edad devónica (hace 398 millones de años), afecta aproximadamente a 90% de las especies vegetales de la tierra. La simbiosis se describe habitualmente como el resultado de la co-evolución de los acontecimientos entre hongos y plantas donde ambos se benefician de los nutrientes a partir de un intercambio recíproco. Las MA son ejemplo único de la simbiosis entre dos células eucariotas, hongos del suelo y las plantas. Esta asociación induce importantes cambios fisiológicos en cada pareja que se dirige hacia beneficios recíprocos, principalmente en el suministro de nutrientes.

### PALABRAS CLAVES

Plantas, micorrizas, agua, nutrientes, simbiosis, hongos y genes.

## **ABSTRACT**

Water deficit is considered one of the most important abiotic factors limiting plant growth and yield in many areas on earth. By consequent effects on tissue hydration and plant physiology. Arbuscular mycorrhiza (AM), a symbiosis between plants and members of an ancient phylum of fungi, the Glomeromycota, improves the supply of water and nutrients, such as phosphate and nitrogen, to the host plant. The AM symbiosis is the association between fungi of the order Glomales (Zygomycetes) and the roots of terrestrial plants. Conservative estimates suggest that this ancient symbiosis, dating back to the early Devonian age (398 million years ago), affects approximately 90% of the Earth's land plant species. The symbiosis commonly described as the result of co-evolution events between fungi and plants where both partners benefit from the reciprocal nutrient exchange. The AM are a unique example of symbiosis between two eukaryotes, soil fungi and plants. This association induces important physiological changes in each partner that lead to reciprocal benefits, mainly in nutrient supply.

## **KEYWORDS**

Plants, mycorrhizas, water, nutrients, symbiosis, fungi and gene.

## I. INTRODUCCIÓN

En la naturaleza, las plantas son frecuentemente expuestas a condiciones ambientales adversas que tienen un efecto negativo en su supervivencia, desarrollo y productividad. La sequía y la salinidad son considerados como factores abióticos que limitan el crecimiento de las plantas y el rendimiento en muchas áreas (Ruiz-Lozano, 2003).

La disponibilidad de Nitrógeno (N) limita a menudo el crecimiento de la planta. Una gran cantidad de N se almacena en la materia orgánica del suelo, pero las plantas generalmente lo absorben como  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ , en forma de N inorgánico en el suelo, basándose en los microorganismos para mineralizar el N de forma orgánica (Atul-Nayyar et al., 2009).

Estudios sobre las interacciones entre los hongos micorrízicos arbusculares y las plantas, en la mayoría de los casos han demostrado que mejoran el estado nutricional de las plantas huésped y, por tanto, su fineza en general (Hoffmann et al., 2009).

La simbiosis micorrízica, es una asociación mutualista planta-hongo, la cual es una característica esencial de la biología y la ecología de la mayoría de las plantas terrestres, ya que influye en su crecimiento, la absorción del agua y de nutrientes además de proteger de enfermedades a la raíz. Entre los hongos micorrízicos, las Micorrizas Arbusculares (MA) son antiguos *Zygomycetes*, que se sabe que colonizaron las raíces de las primeras plantas terrestres y hoy en día son asociados a un 80% de las especies vegetales (Bianciotto and Bonfante, 2002).

Las raíces de la mayoría de las especies de plantas terrestres forman asociaciones mutualistas con hongos micorrizógenos arbusculares, haciendo de estas las interacciones más conocidas (Sanders, 2003).

Ha sido más de 100 años desde que Isobel GALLAUD publicara su tesis sobre las descripciones detalladas que figuran e ilustran las diferentes estructuras de lo que ahora se conoce como micorrizas arbusculares. El trabajo de GALLAUD ha sido reconocido como un avance muy significativo en los estudios de la simbiosis hongo-planta realizadas a finales del siglo XIX, también proporcionó información sobre la formación de las "vesículas" (Dickson et al., 2007).

En simbiosis de micorrizas arbusculares (MA), el hongo habita en espacios apoplásticas dentro de la raíz donde se crean nuevos interfaces en las que las

paredes de ambos simbioses se modifican y sobre la cual los nutrientes se intercambian (Schultz and Harrison, 2008).

## **1.1 OBJETIVO**

Efectuar una revisión documental de la colonización en plantas por micorrizas arbusculares que se ha publicado en los últimos años en revistas indexadas.



## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 EVOLUCIÓN DE LAS MICORRIZAS ARBUSCULARES

Los datos fósiles y moleculares sugieren que las raíces y los hongos micorrízicos arbusculares han compartido una vida de asociaciones desde el período Devónico. El éxito de las micorrizas en la evolución se debe principalmente al papel central que juegan los hongos MA en la captura de nutrientes del suelo en casi todos los ecosistemas y en particular en la absorción de fosfato. Como consecuencia de ello, son determinantes en la biodiversidad vegetal, la variabilidad de los ecosistemas, además de la productividad de la comunidad de plantas (Van der Heijden et al., 1998).

Los hongos MA no sólo son una característica esencial de la biología y ecología de la mayoría de las plantas terrestres, puesto que también interactúan con diferentes clases de bacterias durante su ciclo de vida. De hecho, las micorrizas arbusculares (MA) establecen interacciones con bacterias que viven en la rizósfera durante su fase extra-radicular, también lo hacen durante la endosimbiosis con bacterias que viven en el citoplasma de algunas cepas de hongos (Bonfante, 2003).

## **2.2 DESARROLLO DE LA SIMBIOSIS DE LAS MICORRIZAS ARBUSCULARES (MECANISMO DE COLONIZACIÓN)**

### **2.2.1 Primeros eventos de señalización**

La germinación de las esporas de las MA y el crecimiento inicial de las hifas puede ocurrir en ausencia de la raíz de la planta, sin embargo, tanto los exudados de las raíces, los compuestos volátiles, como el CO<sub>2</sub> puede estimular al mismo tiempo estos procesos. En algunos casos, con los exudados de la raíz se obtienen una rápida y extensa ramificación de las hifas al entrar en el entorno de esta, una respuesta que se ha observado cuando las hifas encuentran a las raíces de las plantas huésped, pero no cuando las raíces son de plantas no - huéspedes, lo que indica que el reconocimiento del huésped es muy específico. En este caso, la falta de reconocimiento de los no-huéspedes podría ser debido que no se produce la señal, sin embargo, en otros casos, la falta de la respuesta es debido probablemente a la síntesis de compuestos inhibidores por parte de la planta (Harrison, 1999).

La gama de todos los componentes activos presentes en los exudados de la raíz es desconocida. Sin embargo, algunas de las actividades son probablemente debido a los compuestos de flavonoides y fenólicos que estimulan el crecimiento de algunas especies de MA. Las moléculas especiales responsables de provocar la ramificación de hifas se desconocen. Los

compuestos flavonoides son activos en concentraciones muy bajas, se supone que no tienen un efecto nutricional, pero actúan como señales para estimular o inhibir el crecimiento de los hongos. Los flavonoides / isoflavonoides de las plantas se unen a los receptores de estrógeno, y recientes experimentos que utilizan estrógenos y anti-estrógenos proporcionan evidencia preliminar de la presencia de un receptor de hongos MA capaces de alcanzar un tipo de flavonoides (biochanin A) y estrógenos. Sobre la base de las estructuras de estas moléculas, indica que los anillos A y C de los isoflavonoides y el grupo hidroxilos en la posición A-7 son características importantes para el reconocimiento por parte del receptor (Harrison, 1999).

Los derivados de flavonoides pueden influir en las fases iniciales del ciclo de vida de hongos, los experimentos con mutantes deficientes en flavonoides de maíz indican que no son esenciales para el desarrollo de la simbiosis. Tal vez en ambientes naturales, los flavonoides, mediada por la estimulación del crecimiento y la ramificación en los alrededores de la raíz ayuda a asegurar el contacto con la raíz y el establecimiento de la simbiosis. Los efectos diferenciales de flavonoides / isoflavonoides en distintas especies de hongos podrían ser proyectadas para la influencia de poblaciones de hongos asociados con determinadas plantas (Harrison, 1999).

Los eventos de señalización entre la raíz huésped y las MA antes y después de la colonización aún no son plenamente comprendidos, sin embargo, distintas etapas morfológicas de desarrollo de los hongos micorrízicos arbusculares han sido definidos, y pueden ser clasificados como "huésped-dependiente" y "huésped-independiente" (Gadkar et al., 2001).

La fase asimbiótica de los hongos se limita a la germinación de las esporas y a la producción de una cantidad limitada de micelios, que se produce en ausencia de la planta huésped. Las señalizaciones resultan necesarias para inducir cambios morfológicos en el hongo y para activar el crecimiento (Balestrini and Lanfranco, 2006).

Los hongos micorrízicos arbusculares pueden influir en la comunidad microbiana del suelo a través de diferentes mecanismos, incluida la modificación de la señalización de la planta o defensas relacionadas con las vías bioquímicas y la modificación de la naturaleza, cantidad, y la distribución de carbono derivados de la compuestos en el suelo (Atul-Nayyar et al., 2009).

### 2.2.2 Formación del apresorio

El desarrollo de la simbiosis se inicia cuando la hifa de un hongo tiene contacto con la raíz de una planta huésped, donde se diferencia para formar un apresorio (el cual es una estructura de fijación que se forma en las hifas unicelulares laterales cortas y especializadas, que se caracterizan por que se adhieren a la cutícula de la raíz de la planta hospedante cuya función es el mecanismo de sujeción y precede la perforación de la cutícula para la infección). Aunque los componentes de los exudados de la raíz son capaces de estimular el crecimiento y la ramificación de hifas, estos no son capaces de provocar la formación de apesorios, que inicialmente se observa solamente en las raíces intactas (Harrison, 1999).

Se ha demostrado que *Gigaspora margarita* podrían formar apesorios in vitro en paredes purificadas de las células epidérmicas aisladas de las raíces de zanahoria, uno huésped de *Gigaspora margarita*, pero no en las paredes aisladas de betabel, especie no huésped (Harrison, 1999).

El hongo también reconoció específicamente las paredes de las células epidérmicas y no forma apesorios en las paredes de células corticales o vasculares. Estos experimentos indicaron que la señal para la formación de apresorio se encuentra dentro de la pared celular de la epidermis. Los experimentos también confirmaron que la señal de la ramificación es también

ligada débilmente a la pared o a exudados de las raíces, donde los fragmentos de las paredes purificadas no han provocado la extensa ramificación de hifas observadas en las raíces intactas. Estas paredes purificadas consisten en una mezcla de polisacáridos, como celulasas y poligalacturonas y algunas proteínas. Las moléculas de carbohidratos actúan como señales en un número de interacciones de hongos con otras plantas y son los posibles candidatos para la inducción de apresorios en la simbiosis micorrízico arbuscular (Harrison, 1999).

Los estudios han indicado que las señales topográficas o bioquímicas en la superficie de la raíz puede ser necesario para la formación de apresorio, hasta el momento, no hay una señal de la planta que haya sido implicado en la formación de un apresorio, pero hay pruebas de que un factor conocido como Nod y Myc pueden estar implicados en la inhibición de la formación de un apresorio (Gadkar et al., 2001).

Los apresorios se forman antes de la penetración de los hongos a la pared celular cortical de la planta (Parniske, 2004).

La mayoría de las plantas notablemente presentan una reacción citológica pequeña para la formación de apresorio o para las primeras etapas de colonización de las raíces. Tras el primer contacto físico entre las hifas y raíces

de las plantas, el hongo forma apresorios y posteriormente penetra en la superficie de la raíz colonizando los espacios intercelulares de la corteza de la raíz (Hause and Fester, 2005).

Se dice que el calcio (Ca) es muy importante en la formación de dichos apresorios, ya que en la actualidad se han encontrado varios genes homólogos relacionados con dicha formación (Balestrini and Lanfranco, 2006).

### **2.2.3 Penetración de la raíz**

La formación del apresorio es seguido por el desarrollo de la penetración de una hifa a la raíz. Esto puede ocurrir de diferentes formas, en algunas especies, las hifas entran forzando su camino entre dos células epidérmicas, mientras que en otros casos, la hifa penetra en una epidermis o en la pared celular del pelo de la raíz y crece a través de la célula. Los mecanismos exactos involucrados en la penetración se desconocen, sin embargo, por analogía biotróficos a un número de patógenos, se ha sugerido que son específicos, la producción localizada en la pared celular de las enzimas de degradación, en combinación con la fuerza mecánica, puede facilitar la entrada de las hifas sin inducir la respuestas de defensa. Los hongos MA producen exo y endoglucanasas, celulasas, xiloglucanos, y enzimas pectolíticas incluyendo poligalacturonasa, todo lo que aceleraría su paso a través de la pared celular. Desde que los

apresorios se desarrollaron en los fragmentos de la pared de las células epidérmicas purificadas no forman una penetración viable de la hifa y no penetran en la pared, los procesos posteriores a la formación de apresorios probablemente requerirá una célula intacta (Harrison, 1999).

Una amplia gama de plantas mutantes sobre las cuales los hongos MA pueden formar apresorios, pero no pueden desarrollarse más allá, son la prueba directa que la planta controla este paso del desarrollo en la asociación. Este fenómeno se ha observado en los mutantes de *Pisum sativum*, *Medicago sativa*, *Vicia faba*, *Phaseolus vulgaris*, *Medicago truncatula*, *Lotus japonicus*, y *Lycopersicon esculentum*. Los fenotipos de estas asociaciones mutantes son bastante similares a un nivel morfológico y se dividen generalmente en dos grupos definidos. En asociación con el *P. sativum*, *L. esculentum*, y los mutantes de *Medicago*, los hongos forman apresorios que con frecuencia son grandes y deformados y que se convierten en septadas cuando los hongos no entran en la raíz (Harrison, 1999).

En una de las líneas mutantes de *Medicago sativa*, el número de apresorios formados, es una posible consecuencia de la incapacidad para penetrar, sin embargo, el aumento del número de apresorios no se reportaron para los mutantes de *P. sativum*. En *P. sativum*, el fenotipo no penetrante se conoce como myc (-1). Ellos pertenecen a cinco grupos de complementación, lo que



indica que la entrada en la raíz está bajo control genético complejo. Los rasgos segregan como único loci recesivo y la condición está determinada por las raíces. El injerto de vástagos de tipo silvestre sobre poblaciones mutantes no libera a los mutantes. Los vellos radicales preparados a partir de estos genotipos también mantienen su status de no micorrizas. El análisis citoquímico de uno de los *P. sativum* y una de las interacciones mutantes de *M. sativa* indica que los depósitos de la pared celular, incluyendo los callosos y las sustancias fenólicas, estuvieron presentes en las paredes de las células adyacentes a los apresorios (Harrison, 1999).

Estas formaciones no se presentaron en las interacciones de tipo silvestre, lo que sugiere que una respuesta de defensa se ha producido en estos mutantes. Basándose en estos datos, es posible que un supresor de respuestas de defensa se haya transformado de tal manera que la planta ahora ve el hongo como patógeno. Esta situación recuerda a la de la cebada / *Erysiphe graminis* (oidio de los cereales), interacción donde la mutación inducida por alelos recesivos del locus Mlo confieren resistencia a una amplia gama de *Erysiphe* aislados. La resistencia está mediada por la formación de aposiciones sobre las paredes celulares de los apresorios y el Mlo de tipo silvestre es un regulador negativo de respuestas de defensa, así como la muerte celular de las hojas. El gen Mlo ha sido clonado y la proteína codificada puede ser un integrante de la

membrana, sin embargo, la función de la proteína y el mecanismo de regulación de las respuestas de defensa aún no se determinan (Harrison, 1999).

Los mutantes del *P. vulgaris* y *L. japonicus* muestran un fenotipo ligeramente diferente de las otras especies y la formación del apresorio es seguido por la penetración de la primera capa de la célula. La asociación entonces aborta en la epidermis de la raíz en donde las hifas inflamadas y deformes son visibles dentro de estas células. En los mutantes de Lotus, las hifas de vez en cuando logran superar el bloqueo en la epidermis y el crecimiento de las hifas deformes continúa, la producción normal de las estructuras internas de las micorrizas. Desde que estos son indistinguibles de tipo silvestre, se ha sugerido que los genes mutados no son necesarios para las fases posteriores de crecimiento. Todos los mutantes de las micorrizas de las fabáceas también se ven afectados en su capacidad de formar una simbiosis de fijación de nitrógeno con especies de *Rhizobium* y así definir un conjunto de genes, denominados genes sym, esencial para ambas simbiosis (Harrison, 1999).

Las similitudes entre estas simbiosis apenas comienzan a surgir, y algunas de las vías de señalización y los acontecimientos que posteriormente ocurren durante la formación de la simbiosis sin duda se conservan. Un mutante no penetrante identificado en *L. esculentum* es el primer de este tipo en ser identificado en las especies de las no fabaceas. Este mutante muestra un

fenotipo similar al de los mutantes de las leguminosas, aunque las respuestas son ligeramente diferentes dependiendo de la simbiosis de hongos involucrados. *Glomus mosseae* fue incapaz de penetrar en las raíces mutantes de *L. esculentum*, mientras que *G. margarita* fue ocasionalmente capaz de entrar. En contraste con los mutantes de *L. japonicus*, esta mutación parece afectar a las etapas del desarrollo interno de la micorriza, y después de la entrada, *G. margarita* no se desarrolla ampliamente dentro de las raíces y fue incapaz de formar arbusculos. El futuro de la clonación de los genes mutados, lo cual debería ser factible para *L. esculentum* y también para las leguminosas, *L. japonicus* y *M. truncatula*, debido a su pequeño genoma, contribuirá a comprender los mecanismos de control (Harrison, 1999).

En un análisis de raíces transgénicos se ha demostrado que existen mejoras no sólo en las regiones de las raíces colonizadas por el hongo, sino también en los sitios distales a estas regiones. Basándose en este estudio se dice que el Monte-xht se trata de una modificación sistémica de la estructura de la pared celular para permitir la penetración de hongos en las raíces (Balestrini and Lanfranco, 2006).

#### **2.2.4 Crecimiento interno y desarrollo de arbusculos en micorrizas del género *Arum***

El desarrollo del hongo comienza con la germinación de las hifas desde las esporas. En ausencia de una planta huésped, los hongos MA muestran únicamente el crecimiento limitado de hifas mientras que en la presencia del crecimiento de exudados de la raíz y la ramificación de hifas aumenta vigorosamente (Hause and Fester, 2005).

Esta reacción de los hongos presimbióticos se caracteriza por la activación de genes específicos seguida por los subsiguientes cambios fisiológicos y morfológicos (Hause and Fester, 2005).

Respuestas positivas del crecimiento y mejora de la nutrición de fosfatos se ha mostrado en muchas especies de plantas que forman micorrizas arbusculares del tipo *Arum*, y esto ha sido confirmado con las mediciones de la absorción de fósforo radiactivo ( $^{32}\text{P}$  o  $^{33}\text{P}$ ) a través del micelio externo (Dickson et al., 2007).

Hay dos tipos principales morfológicas de la simbiosis de micorrizas arbusculares con estructuras de diferentes interfaces. Las micorrizas tipo *Arum* se caracterizan por los arbusculos intracelulares muy ramificados, sostenidas por las hifas intercelulares, mientras que las micorrizas arbusculares tipo *París*,

se caracterizan por los hongos que crecen directamente de célula a célula (Schultz and Harrison, 2008).

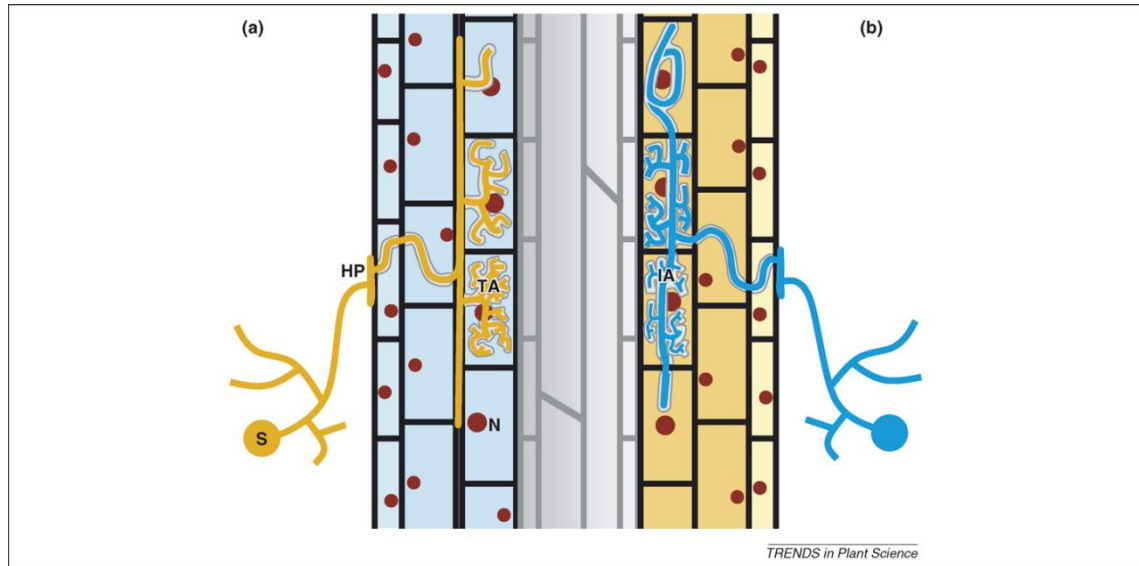


Figura 1.- Colonización de las raíces por hongos MA. (Bonfante and Genre, 2008).

### 2.2.5 El micelio externo

La siguiente colonización de la corteza de la raíz, las hifas fúngicas se desarrollan ampliamente en el fondo del suelo. Este micelio externo juega un papel fundamental en la simbiosis MA, sus funciones incluyen en la adquisición de nutrientes minerales del suelo y su posterior traslocación para la planta, la colonización de las raíces adicionales y, en muchos casos, la producción de esporas. Además de su papel en la simbiosis, el micelio extra-radical contribuye a la estabilidad del suelo por la agregación de partículas, probablemente

mediada en parte por las glicoproteínas producidas por las hifas. Los estudios de esta fase de la simbiosis tienen rezagos detrás de la fase interna, debido principalmente a dificultades con la observación, colección, y la cuantificación del micelio (Harrison, 1999).

Los primeros estudios sobre el micelio externo indicaron que está compuesto de diferentes tipos de hifas, incluyendo hifas grandes e hifas de absorción fina. Estos resultados han sido confirmados, y un examen ultraestructural de las hifas de absorción fina ha puesto de manifiesto características consistentes con el papel en la absorción de nutrientes. Las mediciones del pH de las hifas tanto interna como externa de los medios que rodean las hifas son posibles de llevar a cabo, por lo tanto, el estado fisiológico de las hifas se pueden monitorear (Harrison, 1999).

Compuestos como el glucógeno y los lípidos son los que se exportan al micelio externo o a las vesículas de los hongos (Hause and Fester, 2005).

Por el lado de los hongos, la fase simbiótica se compone de dos sectores diferentes: las estructuras intra-radical (hifas intercelulares, bobinas intracelular, arbusculos) y las estructuras extra-radical consistente en micelio externo y con frecuencia las esporas (Balestrini and Lanfranco, 2006).

Varias enzimas hidrolíticas como la celulasa, pectinasa, y xyloglucanasa han sido reportadas en micelio externo de hongos MA. Estas enzimas son conocidas por estar involucrados en la degradación de material vegetal en el suelo. Los hongos MA posiblemente pueden estar involucrados directamente en la mineralización de los residuos orgánicos, al menos en cierta medida. Las micorrizas arbusculares también puede estimular la descomposición de los microorganismos del suelo (Atul-Nayyar et al., 2009).

## **2.3 DIÁLOGO PRESIMBIÓTICO – RECONOCIMIENTO Y ANTICIPACIÓN**

### **2.3.1 Respuesta del hongo hacia la planta - señales derivadas**

Para ambos simbioses, el período antes del contacto físico (formación de apresorios) implica el reconocimiento y la atracción de los hongos con las plantas y otros eventos para promover una alianza. La supervivencia del hongo biotrófico es reforzado por la germinación y la rápida colonización de plantas hospedantes (Paszkowski, 2006).

Las esporas de los hongos MA persisten en el suelo y germinan de forma espontánea, independiente de las señales derivadas de las plantas. Sin embargo, los exudados de la raíz pueden promover o suprimir la germinación

de estas, lo que indica la existencia de esporas "receptores" sensibles a las alteraciones en la composición química del medio ambiente. Después de la germinación, el tubo germinativo de la hifa crece a través del suelo. En ausencia de un huésped potencial (fase asimbiótica), el crecimiento de hifas está limitado por la utilización de pequeñas cantidades de carbono almacenado y finalmente cesa, sin embargo, la esporas conservan suficiente carbono para permitir la germinación repetida y nuevas posibilidades de encontrar un huésped adecuado. Las esporas especialmente grandes de *Gigaspora gigantea* pueden germinar hasta 10 veces. En los alrededores de una raíz huésped, la morfología de los hongos cambia para un mayor crecimiento de las hifas y la extensa ramificación de las mismas. Tal respuesta puede ser desencadenada por exudados de la raíz huésped o volátil, pero no por exponerlos a raíces no hospedantes o a sus exudados (Paszkowski, 2006).

Estas observaciones indican que los hongos en el sentido de la señal originada del huésped, (factor de ramificación), líder para intensificar la ramificación de hifas que es probable que aumente la probabilidad del contacto con una raíz huésped. Por lo tanto, la distinción entre el huésped y el no huésped se produce en cierto grado en este punto inicial en la interacción. Un importante avance reciente ha sido identificando el compuesto relacionado con la ramificación del factor huésped 5-desoxi-strigol, perteneciente a los strigolactones. Los strigolactones se han aislado de una amplia gama de plantas mono y



dicotiledóneas y eran encontrados previamente para estimular la germinación de semillas de arvenses parásitas, como *Striga* y *Orobancha* (Paszkowski, 2006).

La concentración de strigolactones en exudados de la raíz coincide con la especificidad del hospedador de hongos MA. La *Arabidopsis thaliana* no micotrófica, por ejemplo, produce cantidades muy bajas de strigolactones en comparación con los huéspedes de los hongos MA como la zanahoria y el tabaco. La vía biosintética de strigolactones no está bien comprendida. Fueron descritos anteriormente como sesquiterpenos, sin embargo, el uso de mutantes de carotenoides del maíz e inhibidores de las vías de isoprenoides en maíz, sorgo y frijol mostraron que los strigolactones se derivan de la vía biosintética de los carotenoides, a través de los plastos, no mevalonatos, fosfato metileritritol (vía MEP). Curiosamente, los productos de degradación de carotenoides mycorradicin (pigmento amarillo) y ciclohexenonas se acumulan específicamente en las raíces que forman micorrizas (Paszkowski, 2006).

El uso de las mismas mutaciones de carotenoides de maíz reveló la falta de producción del mycorradicin y una reducción en la colonización de las micorrizas. Estos autores examinaron las etapas posteriores de la interacción MA. Ahora será interesante analizar las propiedades de principios simbióticos de estos mutantes de maíz en relación con strigolactone como un estimulante

de la ramificación presimbiótico de los hongos. No obstante, los resultados indican que los derivados transformados a carotenoides están involucrados en varias etapas en el desarrollo de la simbiosis MA, posiblemente mediante la estimulación intra-radical de la ramificación de los hongos. Los mutantes de tomate se deterioraron en el desarrollo de la simbiosis MA con *Gigaspora* y *Glomus* aislados que se mostraron afectados en la estimulación presimbiótico de la germinación de esporas y el crecimiento de hifas (Paszkowski, 2006).

Durante la formación de la asociación simbiótica las hifas fúngicas penetran en las raíces y forman arbusculos como estructuras en las células corticales del huésped. Aunque estos arbusculos invaden una célula huésped, están rodeados por una membrana plasmática periarbuscular de la planta, asegurando la ubicación de las estructuras apoplásticas de los hongos (Uehlein et al., 2007).

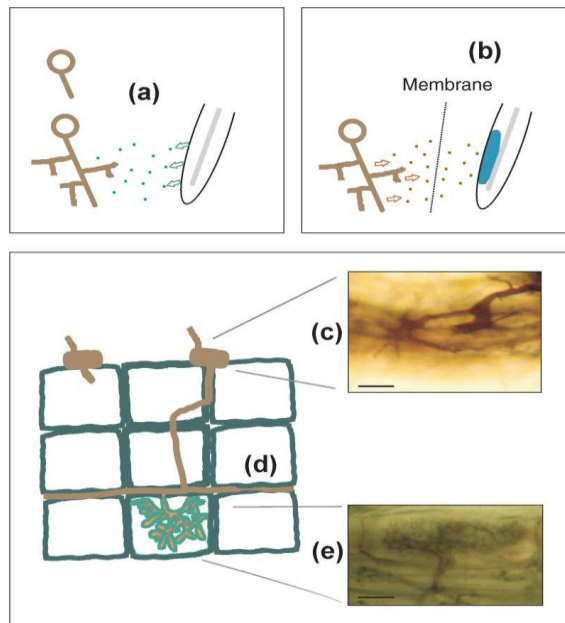


Figura 2.- Las etapas de colonización de las raíces por un hongo micorrízico arbuscular (MA). (a) Ramificación de hifas; (b) expresión génica, (c) formación apresorios y el paso a través de las capas exteriores de las células de la raíz; (d) hongos apoplásticos de propagación longitudinal y (e) formación de arbusculos en la corteza interna (Paszkowski, 2006).

### 2.3.2 Respuesta de la planta hacia el hongo – señales derivadas

La planta responde al perfil microbiano de la rizósfera de diferentes maneras, dependiendo del tipo de organismo presente. Poco se sabe acerca de las señales de los hongos MA, su percepción o consecuencias disparados en la planta (Paszkowski, 2006).

Curiosamente, cuando se permite el contacto y la penetración, la expresión genética se limita a las células infectadas y asociados que indica la inducción de una actividad supresora de las células vecinas no colonizadas. Así, es

posible que la región más grande de la raíz de la planta sea preparada para un encuentro con el hongo en la anticipación del programa de un simbiote que incluye la expresión de un conocido como MtENOD11. Cuando se hace contacto y una zona precisa de la penetración y colonización se ha establecido, la expresión génica está restringida a las células en contacto directo con la penetración del hongo (Paszkowski, 2006).

## **2.4 FASE SIMBIÓTICA TEMPRANA – CONTACTO Y PENETRACIÓN**

### **2.4.1 Desarrollo de apresorios**

El inicio de la simbiosis se caracteriza morfológicamente por la formación de apresorios, el primer contacto de celda a celda entre el hongo y la planta y el lugar de entrada de hongos dentro de la raíz huésped. El desarrollo de apresorios se puede considerar como un resultado exitoso de los eventos de reconocimiento presimbiótico cuando hongos y plantas se asocian para una interacción comprometida. Aparte de características físicas también se requieren características químicas para la formación de estos apresorios, la penetración necesita el apoyo de células intactas (Paszkowski, 2006).

Los fenotipos de numerosas plantas mutantes afectadas en la fase de penetración fomentan el desarrollo de los apresorios (Paszkowski, 2006).

### **2.4.2 La vía SYM común**

La mayoría de los genes SyM se conservan en la composición de dominio general entre las leguminosas y el arroz. Aunque todos los genes son necesarios para la formación de la estructura de alojamiento celular (Parniske, 2008).

Todos los mutantes de leguminosas descritos hasta ahora son símbolos comunes de mutantes dañados en la endosimbiosis de la raíz, micorrizas y la nodulación. Estos mutantes indican la existencia en las leguminosas de los programas genéticos parcialmente compartida, requerida para una interacción exitosa con simbiontes de hongos y bacterias (Paszkowski, 2006).

La identificación de los componentes adicionales dentro de la fijación simbiótica de nitrógeno indica que la señalización de las proteínas con funciones relacionadas podría estar implicada en micorrizas de señalización (Paszkowski, 2006).

En resumen, la disección de la genética común de la transducción de señal vía SYM necesaria para la endosimbiosis de las bacterias y la raíz de hongos no sólo excede las partes implicadas, sino también proporciona un primer vistazo a la conservación y la especialización de la señalización esencial para la nodulación y el desarrollo de las micorrizas (Paszkowski, 2006).

### **2.4.3 Propagación apoplástica del hongo**

El paso transcelular de las capas exteriores de las células de raíz pareciera ser un callejón sin salida en el desarrollo de la simbiosis micorrízico arbuscular, mientras que la entrada hacia la corteza apoplástica permite la rápida propagación del hongo a lo largo de los ejes de la raíz (Paszkowski, 2006).

En el mutante *taci1* del maíz, el hongo entra en el apoplasto e inicia el crecimiento de hifas a lo largo de los ejes longitudinales de la raíz. Sin embargo, estas hifas se convierten en septadas y mueren, y la difusión horizontal no se logra. Cuando hay una alteración en la composición de la pared celular como consecuencia hay un menor crecimiento microbiano (Paszkowski, 2006).

En *M. trunctatula*, los fenotipos de *taci1* y *CDPKi* proporcionan pruebas de que las plantas de factores codificados son requeridas para la proliferación apoplástica de los hongos (Paszkowski, 2006).

## **2.5 FASE SIMBIÓTICA MADURA – HAUSTORIO Y NUTRICIÓN MINERAL**

### **2.5.1 Desarrollo del arbusculo**

Los arbusculos son el resultado de la coordinación del desarrollo sub-celular de la célula de la planta huésped y el hongo micorrízico arbuscular. El desarrollo del arbusculo es acompañado de la proliferación de los plastidios y la formación de una red plastidial en estrecho contacto físico con dicho arbusculo (Parniske, 2008).

Durante la formación los arbusculos las hifas fúngicas penetran en el apoplasto de la raíz e instalan las interfaces altamente especializados para el transporte de solutos entre la planta y el hongo (Uehlein et al., 2007).

Los arbusculos no están localizados en las capas definidas de la raíz de las células corticales, pero si se han encontrado en el gametofito de la misma planta (Dickson et al., 2007).

Un número de genes identificados durante el desarrollo del arbusculo han sido reportados en otros sistemas, como los genes relacionados con el estrés (es decir, metalotioneínas). Se propone que la acumulación de los productos génicos correspondientes puede contribuir a una mayor resistencia de las

raíces de micorrizas a los patógenos del suelo por hongos, ya que este tipo de bioprotección ha demostrado estar relacionado con el desarrollo de arbúsculo funcional. Estos genes podrían también estar involucrados en el control del desarrollo de hongos y podría estar en funcionamiento durante la degradación del arbúsculo en la desintoxicación y la eliminación del material necesario del hongo (Balestrini and Lanfranco, 2006).

A medida que el hongo se desarrolla a través del apoplasto, las ramas forman hifas que penetran en las células corticales interiores para iniciar la formación del arbúsculo (Parniske, 2004).

Los arbúsculos son la característica clave de la simbiosis MA, ya que representan una forma extrema de la intimidad y la compatibilidad. La formación de arbúsculos dentro de las células del huésped se asocia con dramáticos cambios morfológicos y fisiológicos (Paszkowski, 2006).

El hongo invagina células de la corteza interior donde sufre extensa ramificación dicotómica como la estructura fúngica que puede llenar por completo la vida de células corticales. En consecuencia, la arquitectura de la célula huésped sufre cambios notables: por ejemplo, se mueve el núcleo de un periférico a una posición central, la vacuola llega a fragmentarse y una membrana



periarbuscular extensa es sintetizada que se encuentra en continuidad con la membrana plasmática de la planta (Paszkowski, 2006).

A pesar de esta intensa actividad de ambos frente a las células arbusculares, el colapso de arbusculos después de varios días, deja intacta la corteza de una célula que luego es apto para generar otro arbusculo. Lo que provoca la entrada de hongos en la celda se desconoce, pero la percepción de un gradiente de azúcar radial entre el tejido vascular y en las capas exteriores de células pueden estar involucrados en la inducción de la formación del arbusculo. Las señales que inducen la ramificación de hongos intracelulares o la decadencia de arbusculos tampoco han sido identificadas hasta la fecha (Paszkowski, 2006).

Sin embargo, la identificación de strigolactone como un estimulante para la ramificación presimbiótico de hongos, indica que las moléculas relacionadas pueden provocar ramificación intracelular de hifas. Se ha sugerido que la senescencia arbuscular es el resultado de respuestas de las plantas contra la colonización intracelular. Alternativamente, el inicio del colapso arbuscular puede ser causada por hongos endógenos de señalización. El desarrollo de arbusculos es al menos parcialmente bajo el control de un programa genético; en muchos casos la expresión de genes se controla en la fase de una simbiosis (Paszkowski, 2006).

Son pocos los genes esenciales para la señalización durante la iniciación y la formación de arbusculos; con la ayuda de la genética inversa es posible determinar la importancia de los genes regulados diferencialmente para el desarrollo de una simbiosis MA, sobre todo cuando se dispone de amplios recursos, como *L. japonicus*, *M. truncatula* y el arroz (Paszkowski, 2006).

### **2.5.2 Adquisición de nitrógeno y fósforo simbiótico**

La contribución de hongos es más complejo, está claro que el hongo ayuda a la planta con la adquisición de fosfatos y otros nutrientes minerales del suelo, y también es evidente que puede influir en la resistencia de la planta a los patógenos invasores (Harrison, 1998).

En la actualidad es evidente que los hongos micorrízicos arbusculares pueden modificar las relaciones hídricas del huésped de una manera totalmente ajena a la adquisición de fósforo mejorado (Ruiz-Lozano, 2003).

En cuanto a suministro de nitrógeno, las micorrizas arbusculares inducida por los transportadores de nitrato de plantas han sido encontrados, lo que sugiere un mecanismo de transporte similar al de los fosfatos, por otra parte, la observación del incremento de los niveles de transcripción del nitrato reductasa

de hongos sugiere que la transferencia de nitrógeno sea de forma reducida; como el amonio o en una forma orgánica (Hause and Fester, 2005).

Los hongos micorrízicos arbusculares obtienen los hidratos de carbono de sus huéspedes y, simultáneamente, mejoran la adquisición de nutrientes minerales en la planta, en particular, de fosfato. Recientemente se ha demostrado que la absorción de fosfato simbiótico varía de acuerdo a la planta en combinación con el hongo. La ruta metabólica propuesta de adquisición de fosfatos simbióticos comienza con la asimilación de fosfato inorgánico en la interface suelo – hifas, por hongos transportadores de alta afinidad (Paszkowski, 2006).

Dentro de los hongos, el fosfato inorgánico es transportado en forma de polifosfato de las estructuras fúngicas fuera de la raíz. Los transportadores de fosfato han sido identificados en el interior de varias plantas y se ha demostrado la transcripción inducida durante el desarrollo de la simbiosis micorrízica arbuscular, una de las micorrizas inducidas por los transportistas de fosfato se ha localizado en la membrana periarbuscular (Paszkowski, 2006).

Se ha reconocido desde hace tiempo que, además de fosfato, los hongos MA también promueven nitrógeno en la nutrición de sus huéspedes. Últimamente, muy poco se sabe acerca de cómo los hongos micorrízicos arbusculares toman

el nitrógeno del medio ambiente y permiten la transferencia de una porción para la planta (Paszkowski, 2006).

El nitrógeno inorgánico es absorbido por el micelio extra-radical, incorporado dentro de los aminoácidos, transportados de extra a intra-radical en estructuras fúngicas como arginina y luego liberado como amonio hacia la planta. Los arbusculos pueden ser el sitio de la captación de nitrógeno simbiótico en plantas codificadas, situado dentro de la membrana periarbuscular de la planta (Paszkowski, 2006).

## **2.6 SEÑALES ANTES DE LA INTERACCIÓN FÍSICA ENTRE LOS SIMBIONTES**

### **2.6.1 Evidencia de que los hongos perciben señales de las plantas**

Las esporas de los hongos MA pueden germinar en el agua, lo que indica que no requieren la señal de una planta para la germinación, sin embargo, los exudados de la raíz de la planta y compuestos volátiles, incluyendo el CO<sub>2</sub>, estimula la germinación, lo cual indica que los hongos pueden detectar los componentes de la rizósfera (Harrison, 2005).

Después de la germinación, los hongos utilizan triglicéridos y reservas de glucógenos de la espora para ayudar al crecimiento y prolongar el tubo de germen de hifas a unos centímetros de la espora. En ausencia de una raíz de la planta, el crecimiento de las hifas será cesado pero esto sucede antes de que se agoten las reservas de esporas de manera que los hongos tienen una oportunidad para germinar nuevamente y las posibilidades para encontrar una raíz huésped. Algunas especies, con esporas particularmente grandes, son capaces de germinar hasta 10 veces. Las observaciones del crecimiento de los hongos MA en agar o en membranas revelan que una vez que las hifas llegan alrededor de una raíz, aumenta sustancialmente el crecimiento y las hifas se someten a una intensa ramificación, lo que indica que perciben algo que emana de la raíz. La extensa ramificación en los alrededores de la raíz, se supone que aumenta la posibilidad del contacto con la raíz (Harrison, 2005).

En consecuencia con estos estudios, los exudados de las raíces aplicados directamente a las esporas han estimulado el crecimiento de las hifas, mientras que los exudados de las raíces no hospedantes no son estimulantes y, en algunos casos muestran efectos inhibitorios (Harrison, 2005).

Un estudio reciente reveló que el hongo MA *Gigaspora rosea* responde rápidamente y activa la expresión de genes que codifican las proteínas mitocondriales dentro de los 60 minutos de exposición. El incremento

significativo en la actividad respiratoria, incluye el consumo de oxígeno, y la reducción de la actividad que fue detectado en *G. rosea* y en un segundo hongo MA, *Glomus intraradices*, dentro de 2 a 3 horas de exposición a exudados. Poco después se observaron las hifas ramificadas (Harrison, 2005).

En conjunto, estos datos indican que los hongos perciben una señal dentro de las raíces que provoca un aumento en la respiración y el inicio de un crecimiento activo. Como el crecimiento de hongos en presencia de exudados es amplia y continúa hasta que se agoten las reservas de esporas, se ha propuesto que la señal en los exudados inicia una transición para una "fase de crecimiento presimbiótico", momento en el que el hongo se ha comprometido a utilizar plenamente las reservas de esporas. Es lógico entonces que exudados de la raíz no hospedantes no pongan en movimiento esta actividad. En la actualidad, el componente (s) de exudados de la raíz que provoca la actividad respiratoria y la ramificación no se conoce. Los estudios con membranas de diálisis indican que los factores de ramificación fueron menos de 500 (Harrison, 2005).

De un conjunto de experimentos de purificación, se concluyó que los exudados contienen múltiples compuestos, tanto hidrofílicas e hidrofóbicas capaces de estimular la ramificación. Otro procedimiento de purificación parcial indicó que el componente activo es una molécula lipofílica. Los compuestos flavonoides son

comúnmente los componentes de los exudados de raíces de plantas muertas, y muchos de ellos estimulan el crecimiento del hongo. En el mismo estudio, los autores evaluaron un grupo de hormonas vegetales, pero estos no fueron capaces de estimular la ramificación (Harrison, 2005).

Dos mutantes de tomate, *pmi1* y *pmi2*, son incapaces de formar una simbiosis micorrízica arbuscular y tienen exudados que no estimulan el crecimiento de *G. intraradices* (Harrison, 2005).

Sin embargo, los análisis adicionales indicaron que *pmi1* carece de la señal estimulante, pero bien que inhibe la actividad del crecimiento de las hifas. Sería interesante saber si los exudados del *pmi1* contienen un inhibidor general de crecimiento de hongos o si el efecto es específico de las hifas de los hongos MA. En este último caso el mutante puede tener el potencial para proporcionar ideas dentro de inhibidores específicos de crecimiento de los hongos MA y posiblemente arrojar luz sobre los componentes individuales que constituyen las fórmulas químicas del huésped y los exudados no hospedantes. Teniendo en cuenta la gran variedad de plantas capaces de formar simbiosis MA, varios compuestos de estimulación podrían ser predichos (Harrison, 2005).

Aunque la simbiosis MA se considera en gran medida como no específico, las diferencias en la compatibilidad funcional son cada vez más evidente y puede

haber niveles de especificidad que aún no se aprecia. Múltiples moléculas estimulantes, capaces de provocar diferentes reacciones de crecimiento en diferentes especies de hongos MA, proporcionarían un mecanismo por el cual las plantas podrían fomentar la interacción con sus simbioses principales (Harrison, 2005).

### **2.6.2 Evidencia de que las plantas perciben señales de hongos de micorrizas arbusculares**

Se predijo que los hongos MA producirían una señal análoga al factor Nod, pero faltaría la señal de la evidencia directa de un "factor Myc". Recientemente, en experimentos con *Medicago truncatula*, se demostró que MtENOD11, un gen cuya expresión es inducida en la simbiosis MA, podría ser disparado en las raíces antes del contacto directo con el hongo MA (Harrison, 2005).

En experimentos en el que los hongos fueron separados de la raíz de la planta por una membrana de celofán, los autores detectaron la expresión de un promotor MtENOD11-transgén en las raíces laterales para una rápida proliferación de las hifas de los hongos. Tres especies de *Gigaspora* y una especie de *Glomus* fueron capaces de provocar la expresión, indicando que no es una especie de efecto específico. Además, tres hongos patógenos no han suscitado la misma respuesta, lo cual indica que la expresión no es activada en



respuesta para los subproductos en general del crecimiento de los hongos y apoya la hipótesis de una determinada señal de la molécula de los hongos MA. Al variar la barrera de la membrana, los autores sugirieron que la molécula difusible fue menos de 3,5 kDa. MtENOD11 codifica una prolina rica en proteínas de la pared celular que está presente en la punta de las raíces y algunos tejidos aéreos de la planta (Harrison, 2005).

La expresión génica MtENOD11 es inducida de manera significativa durante la nodulación en las raíces de micorrizas, pero su papel en estas simbiosis se desconoce. Mientras, queda establecido que esta señal difusible del hongo es fundamental para el desarrollo de la simbiosis, esto es un hallazgo emocionante y, junto con el trabajo sobre la actividad de ramificación en exudados de plantas, provee una evidencia directa para la señalización antes del contacto físico entre la planta y los simbiosiontes del hongo (Harrison, 2005).

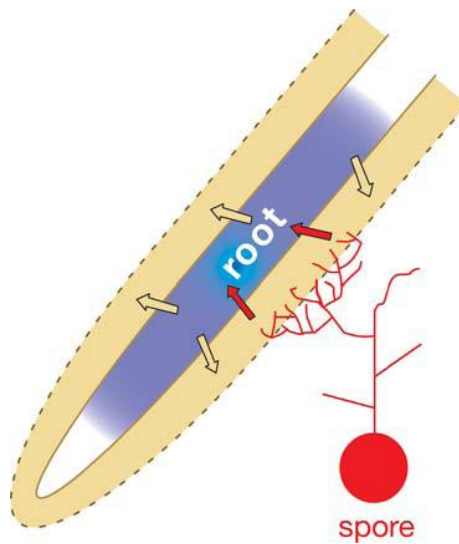


Figura 3.- Intercambio de señales entre la raíz y los hongos MA antes de su interacción física. Cuando el tubo del germe de los hongos llega alrededor de la raíz, una señal de los exudados de la raíz de la planta (amarilla) provoca un aumento en la actividad respiratoria en el hongo y la ramificación intensa de las hifas. Una señal difusible de las hifas de los hongos (flechas rojas) activa la expresión génica en la raíz de la planta (sombreado en azul) (Harrison, 2005).

## 2.7 LA FASE ENDOSIMBIÓTICA

### 2.7.1 Evidencia de señales para la formación de apresorios

Una vez en contacto con la raíz de la planta, los hongos forman un apresorio sobre la epidermis de la raíz a través del cual entra en ella. En contraste con la elaboración, los apresorios melanizados se han formado en hojas de plantas por hongos patógenos, los apresorios formados por el hongo MA son simples, conocidas como estructuras no melanizadas (Harrison, 2005).

Para algunas plantas con hongos biotróficos patógenos, la formación de apresorios es disparado por señales químicas de la superficie de las capas de la hoja y las señales de tigmotropismo tales como las crestas en la superficie de la hoja. Las señales que provocan la formación de apresorios en hongos MA aún no se conocen. Los intentos por inducir la formación de apresorios en superficies sintéticas no tuvieron éxito, pero la *Gigaspora margarita* fue inducido para formar apresorios en fragmentos aislados de la pared de la célula epidérmica (Harrison, 2005).

Los hongos no forman apresorios en fragmentos de pared celular vascular o corticales, lo que indica que la señalización de la molécula es específica de la pared celular de la epidermis. En general, los hongos MA no forman apresorios en la superficie de las raíces no hospedantes, pero esto puede ser una consecuencia de la falta de respiración para activar y estimular el crecimiento de las hifas. Curiosamente, se ha demostrado recientemente que el patógeno del arroz *Magnaporthe grisea*, generalmente considerado como un patógeno de las hojas, también invade las raíces del arroz. En ausencia de las señales de los apresorios inducidos de la hoja, *M. grisea* no forman sus apresorios melanizados pero en vez de formar hifas simples en la superficie de las raíces del arroz que, al menos en un nivel superficial, es similar a los apresorios formados por los hongos MA (Harrison, 2005).

¿Es posible que los hongos patógenos y hongos MA responden a señales similares en la superficie de la raíz? (Harrison, 2005).

Aunque esto es actualmente desconocido, los datos genómicos indican que algunos de los eventos moleculares asociados con la formación apresorios en hongos patógenos y hongos MA podrían ser similares (Harrison, 2005).

### **2.7.2 Vías de señalización de la simbiosis identificada en leguminosas**

El crecimiento de la simbiosis de hongos dentro de la raíz y el desarrollo del arbusculo y la interface de células corticales exigen la modificación de numerosos procesos celulares, y se prevé que la base de señalización es compleja. En las leguminosas, el desarrollo de la simbiosis MA se han definido genéticamente y, recientemente, tres de ellos han sido clonados, proporcionando la primera visión de las proteínas esenciales para la simbiosis MA. Todos los mutantes de micorrizas reportados en las leguminosas hasta el momento han sido identificados a partir de pequeñas poblaciones de mutantes de la nodulación y por tanto representan los genes necesarios para ambas simbiosis. Una serie de datos de biología molecular y la célula de apoyo más comunes entre esta simbiosis, y los recientes experimentos de perfil transcripcional indican solapamientos significativos en sus transcritores, así como para cada conjunto de genes únicos (Harrison, 2005).

Las bacterias invaden el vello de la raíz, viajando en serie como un hilo que los lleva a la corteza de la raíz, donde se liberan en el desarrollo de los nódulos. Las proteínas con nuevos dominios extracelulares son capaces de establecer asociaciones con los hongos MA, lo que indica que estos receptores son únicos para la simbiosis Rhizobium-leguminosa (Harrison, 2005).

Esta vía de señalización es transducida a través de un evento de fosforilación, en la cual transmite flujo de iones que hasta la fecha no es fácil predecir lo que puede transmitir. Para la interacción Rhizobium-leguminosa, la señal de entrada se define y la activación de la vía se produce a través de los receptores del factor Nod NFR1/LYK3 y NFR5. Para la simbiosis MA, la entrada y, en consecuencia, el comienzo de la vía aún no están claras (Harrison, 2005).

Las identidades de las proteínas DMI1 y DMI3 sugieren que los flujos de iones de calcio y de señalización son también centrales para la simbiosis MA. La exposición a la quitina de las paredes celulares de los hongos provoca flujos de calcio en una serie de células de las plantas, y es razonable esperar que los hongos MA pudieran provocar una respuesta similar. Los simbiontes de hongos y bacterias pueden inducir calcio que son percibidas por DMI3 y traducido a diferentes vías de señalización. En el fenotipo DMI3 el hongo penetra en la epidermis, pero la membrana envolvente de las hifas no se produce. Se dice que las interacciones con los hongos MA, no todos pueden ocurrir a través de la

misma vía de señalización. Hay un estudio que también proporciona apoyo a la idea de múltiples vías de señalización (Harrison, 2005).

## **2.8 INFLUENCIA DE LAS MICORRIZAS ARBUSCULARES EN LA ABSORCIÓN DE FÓSFORO POR LA PLANTA**

Las diferentes combinaciones de planta/hongo también pueden proporcionar diferentes eficiencias de transferencia de fósforo a la planta (Dickson et al., 2007).

El hongo MA (orden Glomeromycota), mejora la nutrición mineral de la planta, en particular, la adquisición de fósforo y en cierta medida, nitrógeno (N). Estos son los nutrientes minerales esenciales, cuya disponibilidad a la planta con frecuencia limitan el crecimiento y, en consecuencia, muchas plantas presentan una cierta estimulación del crecimiento cuando son colonizadas por hongos MA. Las moléculas de fosfato (Pi) y el carbono, también actúan como elementos reguladores de la simbiosis (Javot et al., 2007).

Los hongos micorrízicos arbusculares le aportan a la planta macronutrientes como el fósforo, mientras que ellos reciben fotosintéticamente de la planta la fijación del carbono. El fósforo y los hidratos de carbono son los nutrientes más importantes que se intercambian entre ambos, pero también hay una

significativa absorción de nitrógeno por el hongo y la transferencia a la planta (Uehlein et al., 2007).

El fósforo es un nutriente mineral esencial, este constituye el 0.2% (del peso seco) de cada célula de la planta y se requiere así en cantidades significativas. En muchos suelos, la concentración de fósforo disponible para las plantas limita el crecimiento. Por consiguiente, mejorar la adquisición de fósforo tiene un impacto significativo en el crecimiento de la planta, su salud, y como consecuencia en la biodiversidad de la planta y la productividad del ecosistema. Otros aspectos de la simbiosis son también importantes para la planta como es el hecho de la fase extrarradical de hifas de la micorriza arbuscular que causa un impacto favorable al suelo formando agregados que favorecen su textura (Azcón and Barea, 1996).

Las MA bien podrían representar el segundo componente más grande en biomasa en muchos ecosistemas terrestres; así mismo, se ha encontrado que los HMA asociados con las plantas, reciben entre el 60% y el 90% del carbono del dosel de los árboles (Montaño et al., 2007).

Las micorrizas pueden ser importantes para la nutrición de las plantas por que los hongos pueden disolver minerales de sílice en algún grado, liberando elementos esenciales para las plantas (Sieverding, 1991).

## **2.9 IMPORTANCIA PARA EL ECOSISTEMA**

Esta simbiosis es cada vez más reconocida como una parte importante e integral de los recursos naturales de los ecosistemas de todo el mundo (Gadkar et al., 2001).

La principal importancia es la bioprotección atribuida a las plantas contra muchos patógenos del suelo, tales especies como de *Aphanomyces*, *Cylindrocladium*, *Fusarium*, *Macrophomina*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinium*, *Verticillium* y *Thielaviopsis* y varios nemátodos por la colonización de hongos micorrízicos arbusculares de las raíces de las plantas (Harrier and Watson, 2004).

Sin embargo, el mecanismo exacto por el cual se da la colonización de hongos MA, el efecto de la protección no se comprende completamente, pero es necesario un mayor entendimiento de éstas interacciones benéficas para la explotación de los hongos MA dentro de la producción ecológica y / o sistemas de agricultura sustentable (Harrier and Watson, 2004).

Gracias al uso más eficiente que hacen las plantas micorrizadas de los nutrientes del suelo, permiten ahorrar fertilizantes químicos y reducir por



consiguiente los problemas de contaminación que el uso excesivo de fertilizantes conlleva (Cuenca et al., 2007).

Las micorrizas arbusculares son asociaciones ecológicamente mutualistas entre hongos del phylum Glomeromycota y la inmensa mayoría de las plantas, pudiendo ser una herramienta muy útil para la agricultura sustentable (Souza et al., 2006).

La micorrizología es un campo interdisciplinario de las ciencias biológicas que se ha extendido en todo el mundo, su objetivo es la de aumentar la producción de alimentos y reducir los costos de inversión e impactos ambientales que producen los ecosistemas modernos (Souza et al., 2006).

Al no contar con gran cantidad de recursos económicos una opción sería el uso de micorrizas ya que aumenta la producción y en consecuencia la rentabilidad de nuestro cultivo. La investigación de estos organismos, como objetivo práctico, es aumentar la producción, reducir el uso de fertilizantes, productos químicos y contribuir a un patrón de agricultura sostenible y menos dependiente de insumos (Souza et al., 2006).

## **2.10 LAS MICORRIZAS ARBUSCULARES COMO ALTERNATIVA PARA UNA AGRICULTURA SUSTENTABLE**

La micorriza cumple una función clave en la agricultura sostenible. En el prefacio del libro *Mycorrhizae in sustainable agriculture*, menciona que "si el objetivo es reducir los insumos químicos por razones ambientales y de salud, entonces se necesita reestablecer los hongos micorrizógenos y otros microbios benéficos a un alto nivel de efectividad para compensar la reducción de insumos" (Blanco and Salas, 1997).

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 (Blanco and Salas, 1997).

Además de su importancia ecológica, la asociación también puede tener aplicaciones en la agricultura, en particular en sistemas sustentables, donde la relación íntima entre el suelo y la planta creada por la micorriza, su impacto sobre el movimiento de nutrientes, las plantas y la nutrición y conservación del suelo, pueden ser aprovechados plenamente (Harrison, 1998).

Los sistemas de agricultura sostenible se esfuerzan por reducir al mínimo el uso de pesticidas sintéticos y para optimizar el uso de estrategias alternativas de gestión para controlar los patógenos del suelo. Los hongos micorrízicos arbusculares son omnipresentes en la naturaleza y constituyen un componente integral de los ecosistemas terrestres, formando asociaciones simbióticas con sistemas de raíces de plantas de más del 80% de todas las especies de plantas terrestres, incluyendo muchas especies agrónomicamente importantes. Además son particularmente importantes en la producción ecológica y / o sistemas agrícolas sustentables que se basan en procesos biológicos en lugar de agroquímicos para el control de las enfermedades de plantas (Harrier and Watson, 2004).

Las micorrizas arbusculares pueden ser una herramienta muy útil para una agricultura sustentable. Entre sus efectos beneficiosos están: mayor absorción de elementos poco móviles como P, Cu y Zn; protección contra patógenos; mayor resistencia a la sequía; y contribución a la formación de la estructura del suelo; por otra parte, las plantas micorrizadas son capaces de hacer un mejor uso de los fertilizantes orgánicos, bien sea debido a la producción de fosfatasas por parte de los hongos mismos o bien gracias a la asociación existente entre las hifas de las MA y los microorganismos que participan en la mineralización de la materia orgánica (Cuenca et al., 2007).

Además, existen evidencias de que las MA protegen a las plantas del ataque de patógenos y del déficit hídrico. Finalmente, también son conocidos los efectos de las MA en la formación de la estructura del suelo, a través de su papel en la constitución de agregados estables al agua, en los que el micelio externo de las MA tiene una notable participación, así como a través de la producción de una glicoproteína llamada Glomalina, la cual por sus características químicas favorece la agregación de las partículas del suelo (Cuenca et al., 2007).

### III. CONCLUSIONES

La simbiosis de micorrizas arbusculares es una interacción muy antigua anterior a la divergencia entre las plantas mono y dicotiledóneas (Javot et al., 2007).

El análisis de las múltiples interacciones establecida por los hongos MA con células bacterianas ofrecen nuevas claves para comprender la complejidad de la simbiosis MA. La asociación entre los hongos micorrízicos y algunas bacterias del suelo definen nuevos parámetros en el diseño de los inóculos mixtos, mientras que la identificación de las cepas de hongos que contienen bacterias endosimbióticas con importantes rasgos genéticos (por ejemplo, la capacidad de fijación del potencial de nitrógeno) abre nuevas estrategias para el uso racional de los hongos MA (Bianciotto and Bonfante, 2002).

El desafío para el desarrollo de sistemas de producción más sostenibles en el futuro se debe de tener una mejor comprensión de los mecanismos implicados como son: patógenos en las plantas, hongos y los factores ambientales que determinan conjuntamente la escala y el momento de su expresión. Por otra parte, la mejora de comprensión de las interacciones de las prácticas agrícolas, por ejemplo, la labranza, con la colonización de hongos MA para el control biológico es importante realizar prácticas en la agricultura (Harrier and Watson, 2004).

En los últimos años, las primeras ideas sobre los mecanismos moleculares que subyacen el desarrollo de la simbiosis han sido logradas. Las similitudes iniciales y diferencias de otras interacciones de plantas han sido exploradas y explotadas. A pesar de este progreso, hay aún mucho que aprender, y los enfoques moleculares que se han iniciado recientemente, necesitan ser integrados con otras disciplinas para abordar tanto el desarrollo y el funcionamiento de la simbiosis (Harrison, 1999).

#### IV. LITERATURA CITADA

- ATUL-NAYYAR, A., HAMEL, C., HANSON, K. & GERMIDA, J. 2009. The arbuscular mycorrhizal symbiosis links N mineralization to plant demand. *Mycorrhiza*, 19, 239-46.
- AZCÓN, A. C. & BAREA, J. M. 1996. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens – an overview of the mechanisms involved. *Mycorrhiza*, 6, 457–464.
- BALESTRINI, R. & LANFRANCO, L. 2006. Fungal and plant gene expression in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 16, 509-24.
- BIANCIOTTO, V. & BONFANTE, P. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi: a specialised niche for rhizospheric and endocellular bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81, 365-71.
- BLANCO, A. F. & SALAS, A. E. 1997. Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. *Agronomía Constarricense*, 21, 55-67.
- BONFANTE, P. 2003. Plants, Mycorrhizal Fungi and Endobacteria: a Dialog Among Cells and Genomes. *Biology*, 204, 215-220.
- BONFANTE, P. & GENRE, A. 2008. Plants and arbuscular mycorrhizal fungi: an evolutionary-developmental perspective. *Trends Plant Sci*, 13, 492-8.

- CUENCA, G., CÁCERES, A., OIRDOBRO, G., HASMY, Z. & URDANETA, C. 2007. Las Micorrizas arbusculares como alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales. *Interciencia*, 32, 23-29.
- DICKSON, S., SMITH, F. A. & SMITH, S. E. 2007. Structural differences in arbuscular mycorrhizal symbioses: more than 100 years after Gallaud, where next? *Mycorrhiza*, 17, 375-93.
- GADKAR, V., DAVID-SCHWARTZ, R., KUNIK, T. & KAPULNIK, Y. 2001. Arbuscular Mycorrhizal Fungal Colonization. Factors Involved in Host Recognition. *Plant Physiology*, 127, 1493-1499.
- HARRIER, L. A. & WATSON, C. A. 2004. The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil-borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems. *Pest Manag Sci*, 60, 149-57.
- HARRISON, M. J. 1998. Development of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Curr Opin Plant Biol*, 1, 360-5.
- HARRISON, M. J. 1999. Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Physiology*, 361-389.
- HARRISON, M. J. 2005. Signaling in the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. *Microbiology*, 59, 19-42.
- HAUSE, B. & FESTER, T. 2005. Molecular and cell biology of arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Planta*, 221, 184-96.



- HOFFMANN, D., VIERHEILIG, H., RIEGLER, P. & SCHAUSBERGER, P. 2009. Arbuscular mycorrhizal symbiosis increases host plant acceptance and population growth rates of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. *Oecologia*, 663-671.
- JAVOT, H., PUMPLIN, N. & HARRISON, M. J. 2007. Phosphate in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: transport properties and regulatory roles. *Plant*, 30, 310-322.
- MONTAÑO, N. M., CAMARGO-RICALDE, S. L., GARCÍA-SÁNCHEZ, R. & MONROY, A. 2007. Micorrizas arbusculares en ecosistemas áridos y semiáridos (Arbuscular mycorrhizae in arid and semiarid ecosystems). *Instituto Nacional de Ecología-SEMARNAT, Mundi-Prensa SA de CV*, 17, 1-62.
- PARNISKE, M. 2004. Molecular genetics of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Curr Opin Plant Biol*, 7, 414-21.
- PARNISKE, M. 2008. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nat Rev Microbiol*, 6, 763-75.
- PASZKOWSKI, U. 2006. A journey through signaling in arbuscular mycorrhizal symbioses 2006. *New Phytologist*, 172, 35-46.
- RUIZ-LOZANO, J. M. 2003. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies. *Mycorrhiza*, 13, 309-17.

- SANDERS, I. R. 2003. Preference, specificity and cheating in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Trends Plant Sci*, 8, 143-5.
- SCHULTZ, C. J. & HARRISON, M. J. 2008. Novel plant and fungal AGP-like proteins in the *Medicago truncatula*-*Glomus intraradices* arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 18, 403-12.
- SIEVERDING, E. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems *Bremer; Rossdorf : TZ-Verlagsgesellschaft*, 3, 371-379.
- SOUZA, V. C., SILVIA, R. A., CARDOSO, G. D. & BARRETO, A. F. 2006. Estudos sobre hongos micorrízicos. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola y Ambiental*, 10, 612-618.
- UEHLEIN, N., FILESCHI, K., ECKERT, M., BIENERT, G. P., BERTEL, A. & KALDENHOFF, R. 2007. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and plant aquaporin expression. *Phytochemistry*, 68, 122-9.
- VAN DER HEIJDEN, M. G. A., BOLLER, T., WIEMKEN, A. & SANDERS, I. R. 1998. Different Arbuscular Mycorrhizal Fungal Species Are Potential Determinants of Plant Community Structure. *Ecology*, 79, 2082-2091