

IDENTIFICACIÓN DE MICORRIZAS ARBUSCULARES EN SUELOS DE LA ZONA CAFETERA COLOMBIANA

Martha M. Bolaños-B*; Carlos A. Rivillas-Osorio**; Senén Suárez-Vásquez

RESUMEN

BOLAÑOS B., M. M.; RIVILLAS O., C. A.; SUÁREZ V., S. Identificación de micorrizas arbusculares en suelos de la zona cafetera colombiana. Cenicafé 51(4):245-262. 2000

Se evaluó la diversidad y cantidad de Micorrizas Arbusculares (MA), asociadas a la rizósfera de plantas de café en 28 lotes en producción en 10 Subestaciones de Cenicafé y se determinaron los niveles de colonización en raíces y la densidad de esporas/g de suelo. El inóculo nativo se incrementó en *Brachiaria decumbens* y *Pueraria phaseoloides*. En El Cairo, Gigante, Líbano, Buenavista, Pereira y Venecia, se encontraron niveles de colonización entre el 25 y el 48%, resultado asociado con los contenidos de materia orgánica y con el bajo nivel de fósforo en esos suelos. En Sasaima y en Supía, en suelos Hapludands y Dystropets se encontraron los mayores niveles, entre el 40 y el 92%, respectivamente. La densidad de esporas/g de suelo fue mayor de 50. En Naranjal hubo menor cantidad de esporas/g de suelo (11 a 16). Las especies más frecuentes fueron *Acaulospora mellea* y *Glomus occultum*. La fertilización reiterada influyó sobre la cantidad y diversidad de esporas de Micorrizas Arbusculares. En Chinchiná se encontraron *Entrophospora colombiana*, *Glomus manihotis* y *G. fistulosum*. *Acaulospora tuberculata* y *A. scrobiculata* se aislaron en El Cairo. *A. foveata*, *G. invermaium* y *G. fistulosum* se aislaron de suelos con más del 10% de materia orgánica. *G. intraradices* de suelos con 11ppm de P y contenido de materia orgánica del 19% en La Trinidad (Líbano). *Glomus macrocarpum* a pH menor que 5,0. *Sclerocystis sinuosa* junto con *Acaulospora appendicula*, *A. mellea*, *Scutellospora sp.*, *Glomus occultum* y *G. invermaium* se identificaron en suelos con 3ppm de fósforo.

Palabras claves: Micorrizas Arbusculares, *Coffea arabica*, identificación taxonómica.

ABSTRACT

The amount and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) associated to the rhizosphere of coffee plants in 28 plots at 10 Cenicafé experimental stations were evaluated, and the level of root colonization and density of spores/g of soil were determined. Native inoculum was increased on *Brachiaria decumbens* and *Pueraria phaseoloides*. In El Cairo, Gigante, Libano, Buenavista, Pereira and Venecia localities, colonization levels found ranged from 25 to 48%, a result associated to the content of organic matter and the low level of phosphorus in those soils. In Sasaima and Supia, in Hapludands and Dystropets soils, the highest levels were recorded: 40 and 92%, respectively. Density of spores/g of soil was above 50. The least amount of spores/g of soil was found in Naranjal (11 to 16). The most common species found were *Acaulospora mellea* and *Glomus occultum*. Repeated fertilization influenced the amount and diversity of AMF. *Entrophospora colombiana*, *Glomus manihotis*, and *G. fistulosum* were isolated in Chinchina. *Acaulospora tuberculata* and *A. scrobiculata* were found in El Cairo, whereas *A. foveata*, *G. invermaium*, and *G. fistulosum* were isolated from soils containing more than 10% organic matter. *G. intraradices* was isolated from soils with 11 ppm of P and organic matter content of 19%, in La Trinidad (Libano). *Glomus macrocarpum* was found in soils with pH under 5.0, and *Sclerocystis sinuosa*, *Acaulospora appendicula*, *A. mellea*, *Scutellospora sp.*, *Glomus occultum*, and *G. invermaium* were identified in soils with 3ppm of phosphorus.

Keywords: Arbuscular mycorrhizal fungi, *Coffea arabica*, taxonomic identification.

-
- * Investigadora Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, -Corpoica, Regional 9 – Armenia, Quindío, Colombia.
- ** Asistente de Investigación. Fitopatología. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé, Chinchiná, Caldas, Colombia
- *** Investigador Principal I. Química Agrícola. Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia, hasta mayo de 2000.

La zona cafetera colombiana se encuentra sobre las laderas de las cordilleras Oriental, Central y Occidental, que atraviesan el país, desde 1° a 11° de latitud norte. El café, el cultivo más importante de la zona, se cultiva principalmente entre 1.200 y 1.800msnm. Las condiciones de clima y de suelo donde se encuentra plantado este cultivo resultan muy variables. En general, en el año ocurren dos períodos secos y dos lluviosos en la zona cafetera central y un período seco y uno lluvioso en la zona cafetera del norte, en el sur y en el oriente del país. Las lluvias aumentan con la altitud hasta un nivel máximo que varía de acuerdo con la vertiente de la cordillera. Hay regiones con limitaciones de agua en algunas épocas, debido a la distribución de las lluvias y la baja capacidad de retención de humedad de los suelos.

Los mejores suelos por sus características físicas son los Andisoles (15, 38), que presentan altos contenidos de materia orgánica, nitrógeno y fósforo total (4). Son oscuros, profundos, friables y de buen drenaje interno y externo y tienen alta porosidad total, buenas características de aireación y retención de humedad (14). Pero también hay suelos formados por materiales parentales ígneos, metamórficos y sedimentarios, complejos por su heterogeneidad y en gran parte, con impedimentos para el cultivo, con pedregosidad, problemas de mal drenaje y baja retención de humedad entre otros, que los inhabilita para el desarrollo eficiente del cultivo del café.

El café en producción no responde a la fertilización fosfórica (40). Podría pensarse que las endomicorrizas en la zona cafetera asociadas con las raíces de plantas de café, en gran parte, contribuyen con la absorción de fósforo, agua y otros nutrientes del suelo. En la etapa de crecimiento del café se ha registrado aumento en el crecimiento, peso seco y absorción de nutrientes en presencia de *Glomus manihotis*, *G. ocutum*, *G. macrocarpum* y *Entrophospora colombiana*, (1, 20, 21).

Los trabajos relacionados con la identificación taxonómica de los hongos micorrízico-arbusculares en las dos últimas décadas revelan un aumento en el número de especies reconocidas. En 1975, Gerdemann (12) incluyó 31 especies, en 1982, Trappe (39) registró 77 especies, y en la tercera edición del manual de Schenck y Pérez (28) se incluyen 147 especies de hongos formadores de micorrizas arbusculares (MA).

La morfología de las esporas o propágulos producidos por los hongos son la base para obtener la identificación de las especies de MA. Dentro de las características que se estudian están: la forma, la estructura superficial, la estructura citoplasmática, el color y el número y grosor de las paredes de las esporas (29).

Dentro de los géneros, las características particulares más importantes de las especies son la presencia y forma de los esporocarpos y la unión hifal. En cuanto a la morfología de los hongos en la epidermis de la raíz de la planta hospedante, se sabe que no todos los seis géneros forman vesículas (16). Situación diferente ocurre con estructuras comunes a todos los géneros como las hifas y los arbusculos, lo cual condujo a que Morton citado por Guerrero (16) revaluara el nombre de Micorrizas Vesículo-Arbusculares por el de Micorrizas-Arbusculares.

En Colombia se han realizado varios estudios del efecto de la MA en café. Entre las especies evaluadas, *Glomus manihotis*, *G. ocutum*, *G. macrocarpum* y *Entrophospora colombiana* favorecieron el crecimiento, peso seco y absorción de nutrientes (1, 11, 20, 21, 24, 26).

Esta investigación tuvo como propósito describir el aislamiento y la identificación taxonómica al nivel de especie, de micorrizas arbusculares asociadas a la rizósfera de plantas de café (*Coffea arabica*) cultivadas en 10 Subestaciones del Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé, ubicadas en distin-

tos departamentos de Colombia donde el café es una actividad económica importante.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo de especies nativas de Micorrizas Arbusculares. Se estimó el tamaño de muestra, (n), dentro de la población (N = 39 lotes) de la siguiente manera:

$$n = \frac{Z^2 \cdot P \cdot Q}{1 + \frac{Z^2 \cdot P \cdot Q}{N \cdot \delta^2} - 1}$$

Donde : Z_{α} = Valor de la normal (95% = 1,96)

P = Porcentaje de la población de muestra

Q = 1 - P

δ = Precisión

Reemplazando en la ecuación anterior:

$$n = \frac{1,96^2 \times 0,5 \times 0,5}{(0,1)^2} = 28$$

$$1 + \frac{1}{39} \left(\frac{1,96^2 \times 0,5 \times 0,5}{(0,1)^2} - 1 \right)$$

Se tomaron 2.520 muestras de suelo y de raíces de café en producción procedentes de 10 Subestaciones de Cenicafé ubicadas en diferentes localidades (Tabla 1) y con diferentes condiciones ambientales (Tabla 2).

Los muestreos se realizaron en cafetales con más de tres años de crecimiento productivo (más

de cinco años de edad), e incluyeron: café tradicional (café con sombra de leguminosas arbustivas, *Inga* spp.) y café tecnificado (var. Caturra y Colombia) con baja fertilización fosfórica. En total, se seleccionaron para el muestreo 28 lotes con café de diferentes edades y estados de manejo. Se utilizó un diseño de muestreo de conglomerados con asignación de la muestra proporcional al número de lotes de cada Subestación en la siguiente forma: Albán (Valle) 2 lotes; J. Villamil (Huila) 2 lotes; La Trinidad (Tolima) 3 lotes; S/Barbara (Cundinamarca) 8 lotes, Rafael Escobar (Caldas) 4 lotes; La Sirena (Valle) 1 lote; Paraguaquito (Quindío) 2 lotes; La Catalina (Risaralda) 1 lote; El Rosario (Antioquia) 1 lote y Naranjal (Caldas) 4 lotes. En el caso de asociaciones con leguminosas solamente se hizo muestreo de raíces de café.

La unidad de muestreo fue una hectárea, dentro de la cual se tomaron 30 muestras en sitios escogidos aleatoriamente. Con relación a la planta de café, el muestreo se hizo entre 0 y 20cm de profundidad y a tres distancias radiales del tronco: 10, 20 y 50cm. En cada caso se tomaron tres submuestras para formar una sola muestra compuesta, de la cual se utilizaron 100g de suelo y 20g de raíces (peso fresco).

Las muestras de raíces y de suelos se mezclaron por separado y se extrajo una muestra representativa de 3.000g de suelo y 600g de raíces (peso fresco). Éstas permanecieron en nevera hasta su procesamiento para determinar el porcentaje de colonización. Se realizaron análisis de caracterización química de los 28 suelos muestreados siguiendo las metodologías del laboratorio de Química Agrícola de Cenicafé (5).

Incremento de MA nativas. Las MA colectadas en campo se incrementaron en un invernadero en Cenicafé, situado a una altitud de 1310msnm, con temperatura máxima de 25°C, temperatura mínima de 16,5°C, brillo solar de 1963 horas/año, precipitación anual de 2.520mm/

TABLA 1. Localidades de muestreo, taxonomía de los suelos y clasificación ecológica

Localidad	Municipio	Departamento	Unidades de uso y manejo	Taxonomía de suelos	Clasificación ecológica
Alban	El Cairo	Valle	FONDESA	Hapludands	bmh pm
J. Villamil	Gigante	Huila	CRISTALINA	Dystropepts	bh pm
La Trinidad	Libano	Tolima	LÍBANO	Melanudands	bh pm
Sta. Bárbara	Sasaima	C/marca	CHINCHINÁ	Hapludands	bh pm
R. Escobar	Supía	Caldas	GUAMAL	Dystropept	bh t
La Sirena	Sevilla	Valle	CHINCHINÁ	Dystrands	bh pm
Paraguacito	Buenavista	Quindío	MONTENEGRO	Hapludands	bmh pm
La Catalina	Pereira	R/ralda	CHINCHINÁ	Melanudands	bh pm
El Rosario	Venecia	Antioquia	VENECIA	Dystrands	bh pm
Naranjal	Chinchiná	Caldas	CHINCHINÁ	Acrudoxic Melanudands	bmh pm

TABLA 2. Información climatológica de las localidades evaluadas

Localidad	Lluvia (mm/año)	Evaporación (mm/año)	Temperatura (C°)			Brillo solar (Horas/año)	Humedad relativa (%)
			Media	Máxima	Mínima		
Venecia	2524	1125	19,9	24,6	15,6	2153	74
Chinchiná	2687	1137	20,7	26,8	16,3	1825	78
Supía	1906	1245	21,4	26,9	16,8	1861	76
Sasaima	2591	1063	20,3	26,1	15,6	1607	80
Gigante	1318	1045	19,6	24,1	16,1	1314	77
Buenavista	2100	1217	21,3	28,1	16,8	1825	77
Pereira	1978	1210	21,6	26,9	17,3	1606	79
Líbano	2101	900	19,9	24,2	16,1	1560	82
Sevilla	1961	1004	19,7	25,5	15,0	1361	80
El Cairo	1430	985	19,5	24,9	15,9	1553	80

Fuente: Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. Cenicafé. Archivos de datos climatológicos de la Disciplina de Agroclimatología. 1986 - 1993. Chinchiná - Colombia.

año y humedad relativa del 80% (7). Se utilizaron 56 cultivos trampa, correspondientes a 2 por cada suelo muestreado. Como plantas hospedantes se utilizaron *Brachiaria decumbens* y *Pueraria phaseoloides* (micotróficas obligadas) (Figura 1).

Se utilizó como sustrato una capa de 50g de suelo nativo dispuesto entre dos capas del mismo suelo esterilizado. Con el propósito de conservar las características químicas, los suelos para cada cultivo trampa se tomaron de las diferentes localidades estudiadas y se mezclaron

con arena (esterilizados ambos) en proporción 1:1 ó 1:2, según la textura del suelo nativo.

Inicialmente los cultivos trampa se sembraron en vasos de icopor que podían contener hasta 200g de sustrato. Transcurridas ocho semanas se transplantaron a materos de 2kg para garantizar el normal desarrollo de las plantas hospedantes y así una buena cantidad de propágulos del inóculo nativo. Para el manejo de cada uno de los hospedantes se acogieron las recomendaciones agronómicas como escarificación de las semillas, raleo al momento del transplante, control de

temperatura, riego periódico, control manual de arvenses, de insectos y poda de los hospedantes para el mantenimiento de los cultivos en el invernadero. El incremento de las MA nativas tardó siete meses, tiempo al cabo del cual se observaron los cultivos para seleccionar los que presentaron mayor población de esporas y de micelio externo (Figura 2).

Análisis de laboratorio. En Cenicafé se realizaron los siguientes procedimientos: a. Tinción de raíces, para cuantificar el nivel de colonización por las MA nativas (22, 24); b. Tamizado en húmedo y gradiente de sucrosa, para establecer

la densidad de esporas por gramo de suelo en las muestras colectadas (13); c. La identificación taxonómica de algunas de las especies, que fue realizada de manera preliminar en Cenicafé por los autores y luego verificada para cada una de las especies en el Laboratorio Internacional de Biotecnología de la Universidad de Kent, Inglaterra.

Procedimiento utilizado en cada una de las técnicas. Tinción de raíces. Se ajustó variando las concentraciones de los reactivos (KOH y HCl) y el tiempo de exposición de las raíces, el cual fue necesario aumentarlo de una a tres

Figura 1. *Brachiaria decumbens* y *Pueraria phaseoloides*, utilizados como cultivos trampa de MA

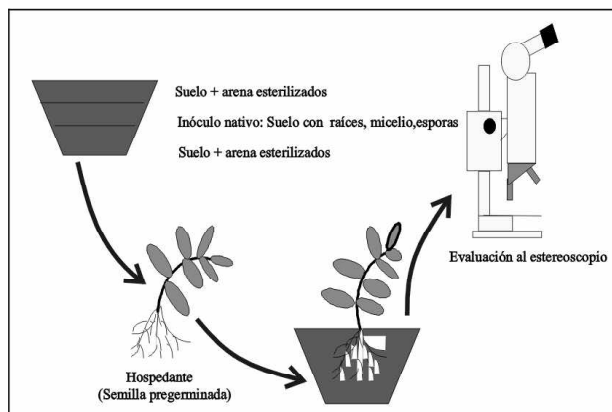


Figura 2. Diagrama del incremento de Micorrizas Arbusculares nativas por medio de cultivos trampa

horas, según la edad de las raíces analizadas. La concentración de los reactivos se disminuyó al 2,5 y al 2% para el KOH y HCl, respectivamente. Se tomó una muestra de 1g de raíz (al azar) que se lavó tres veces con agua y se colocó en tubos de ensayo rotulados. Se realizaron entonces 5 repeticiones. Se aplicó el KOH al 2,5% hasta que las raíces quedaron cubiertas. Posteriormente se llevaron a baño de maría a 90°C durante 3 horas y luego se decantó el KOH, repitiéndose el procedimiento tres veces.

Pasadas tres horas se decantó el KOH, se enjuagaron y escurrieron las raíces y se aplicó HCl al 2,0% durante una hora a temperatura ambiente. El HCl fue decantado (no se enjuagó), se enjuagaron y se escurrieron las raíces a las cuales se les aplicó azul de trypano al 0,05 % y se llevaron a baño de maría a 90°C, durante una hora. Al cabo de este tiempo el azul de tripano se decantó y las raíces se dejaron en cajas de Petri con glicerol al 50%, sustancia que remueve el exceso de colorante.

Evaluación del porcentaje de colonización por MA. Para evaluar la colonización de los hongos MA en raíces de café se hizo un montaje de cinco segmentos de raíces de 2cm de longitud cada uno, en placas portaobjetos con glicerol al 50%. Los porcentajes se calcularon dividiendo el número de campos colonizados por los hongos MA (esporas, micelio, vesículas, arbuscúlos) sobre el total de los campos observados y este valor se multiplicó por 100. Se evaluaron 5 repeticiones por cada muestra de raíz, determinando en cada una de ellas la presencia y cantidad de estructuras de la micorriza como micelio intra e intercelular, vesículas, arbuscúlos, células auxiliares y esporas, y describiendo formas y tamaños en cada caso. Cuando no se hizo la evaluación de las raíces en corto tiempo, se mantuvieron en glicerol al 50% en una nevera.

Para asegurar la confiabilidad de la información se obtuvo el valor del porcentaje de colonización de MA así: por cada muestra se mon-

taron 5 placas portaobjetos y se hicieron 5 repeticiones; posteriormente se calculó el promedio de los valores registrados por lote en cada Subestación de Experimentación. Los niveles de colonización se determinaron mediante la observación de placas al microscopio óptico (Zeiss axiophot) empleando la lente ocular 10X. Cuando se requirió de un mayor detalle de los propágulos se utilizaron las lentes de 40X y 100X (con aceite de inmersión).

Técnica de tamizado en húmedo. Se ajustaron mediante un ensayo combinando los tiempos de centrifugación, las concentraciones de la solución de sucrosa y las velocidades de centrifugación (3). En esta técnica se utilizaron 10g de suelo seco y homogeneizado los cuales se depositaron en tubos de polipropileno de 50ml. El suelo de cada tubo fue vertido en un tamiz de 500µm, colocado sobre otro de 45µm lavado con agua a presión. Se colectó el material del tamiz de 48µm en un tubo de centrifugación con la ayuda de un embudo y de un frasco lavador. A cada tubo se le agregaron de 25 a 30ml de solución de sucrosa al 80%. La centrifugación se realizó durante 3 minutos a 3.800rpm.

Como consecuencia de la centrifugación se obtuvo una sedimentación de las partículas pesadas en el fondo del tubo, mediante la técnica modificada por Rivillas (24). Las esporas se ubicaron en una capa intermedia (gradiente de sucrosa); luego de este tiempo, las esporas se extrajeron con una jeringa adaptada para ello. El contenido de la jeringa (solución con esporas), se vertió sobre un tamiz de 45µm, se lavaron las esporas y se depositaron luego sobre una caja de Petri. Los recuentos se realizaron inmediatamente después de la extracción, pero en caso contrario las cajas de Petri se almacenaron en la nevera.

Determinación de la densidad de esporas por gramo de suelo. La densidad de esporas/g suelo seco se estimó utilizando tres alícuotas de 1ml para hacer el recuento al estereoscopio.

Identificación taxonómica. La identificación taxonómica se basó en la morfología de las esporas; por cada muestra se analizaron 250g de suelo con un contenido amplio y muy diverso de esporas por especie. Transcurridos siete meses después de sembrados los cultivos trampa se realizó una evaluación del contenido de esporas en cada suelo, de su cantidad y diversidad. Este análisis permitió que se enviaran 32 muestras de suelos mezclados con raíces al Institute International of Biotechnology, University of Kent, Canterbury (Inglaterra). Allí el Dr. John C. Dodd¹ realizó la identificación taxonómica.

Montaje de esporas. Las esporas aisladas de los cultivos trampa se montaron en láminas portaobjetos sobre PVLG (alcohol polivinil, agua, ácido láctico y glicerol); la espora se cubrió con una laminilla que se adhiere firmemente al portaobjeto.

Análisis Estadístico. Para establecer que las especies de MA nativas colectadas no pertenecían al mismo género se utilizó la Tabla de Contingencia (Tabla 4). Mediante un análisis de varianza se determinó la diferencia en la densidad de esporas entre las localidades estudiadas.

Se usó un análisis de correlación lineal simple para establecer la relación entre el nivel de colonización de las MA en las raíces de café y la densidad de esporas/g de suelo. Las variables correlacionadas fueron: porcentaje de colonización y número de esporas/g de suelo. Se realizó análisis de correlación lineal para todos los lotes muestreados, individualmente y asociándolos por localidad (Subestaciones experimentales de Cenicafé).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Muestreo de especies nativas de MA. El método de muestreo para suelos y para raíces propuesto en este estudio permitió colectar gran parte de la población de MA nativas asociadas a

la rizósfera de *Coffea arabica*. Según Saif (27), estos microorganismos incrementan su esporulación cuando la planta hospedante se encuentra en proceso de fructificación. En este estudio los cafetales muestreados tenían más de cinco años; etapa de producción donde las plantas alcanzan un importante desarrollo y presentan alta dependencia micorrícica, según Janos citado por Guerrero (16). Respecto a la planta de café en Colombia, Estrada y Sánchez (11) y Rivillas (24), concluyen que ésta es una especie con dependencia micorrícica, coincidiendo con investigaciones efectuadas en Brasil, que registran al café como micotrófico obligado (8, 9, 18, 33).

Los análisis de caracterización química de los 28 suelos muestreados y su evaluación en el contenido de MA indicaron que el nivel de fósforo y en general la fertilidad del suelo, influyeron sobre la población de estos microorganismos (Tabla 3). La concentración elevada de fosfatos en el suelo disminuye la dependencia micorrícica de las plantas y a la vez, determina una menor población de estos simbiontes (17, 34). Los valores del contenido de fósforo pueden considerarse como un indicador de la mayor o menor presencia de MA. Dentro de los agroecosistemas estudiados, algunos lotes habían recibido altas dosis de fertilización y aplicación reiterada de agroquímicos, ocasionando reducción en la diversidad y cantidad de la biota del suelo. Por el contrario, en los cultivos de café denominados “tradicionales” el ecosistema edáfico se encontró menos perturbado constituyendo un ambiente más adecuado para el desarrollo de los microorganismos, incluyendo las MA. En este estudio se encontró que la población de MA aisladas de suelos en Supía, (Caldas) y en Sasaima (Cundinamarca) en café tradicional fue mayor que en Chinchiná (Caldas) en café tecnificado con fertilización. Una posible explicación de este resultado es la mayor sostenibilidad que se conserva en los cafetales con sombrero ó en asociación con otros cultivos, frente al grado de biodiversidad en el

TABLA 3. Análisis químico y textura de los suelos de las diferentes localidades estudiadas.

Lote*	pH	N		MO	K	Ca Mg Al CIC				P Fe Mn Zn Cu				Textura
		%				me/100 g de suelo				ppm				
1	5,0	0,51	12,8	1,28	13,8	2,7	0,1	25	119	540	137	30	10	F
2	4,5	0,38	13,0	1,62	3,0	1,0	3,0	27	250	1050	22	40	19	FA
3	4,6	0,18	5,1	0,44	2,4	0,6	0,6	9	64	440	207	5	27	FarA
4	4,6	0,16	4,0	0,22	1,5	0,4	0,8	8	89	408	222	6	2	ArA
5	4,6	0,78	19,0	0,46	5,4	1,4	0,9	9	23	460	19	25	4	FA
6	4,7	0,71	16,2	1,46	5,4	1,2	1,1	38	26	230	33	12	2	FA
7	4,7	0,69	17,5	0,38	4,0	0,9	1,2	36	11	180	19	11	9	FA
8	5,2	0,86	21,0	0,91	4,5	1,5	0,6	38	4	225	29	11	2	FA
9	5,2	0,86	21,0	0,91	4,5	1,5	0,6	38	4	225	29	11	2	FA
10	5,0	0,74	17,2	0,34	2,9	0,7	0,9	36	5	131	5	9	1	FA
11	5,0	0,74	17,2	0,34	2,9	0,7	0,9	36	5	131	5	9	1	FA
12	5,1	0,75	18,7	0,45	2,5	0,7	0,7	34	5	177	11	9	0	AF
13	5,1	0,75	18,7	0,45	2,5	0,7	0,7	34	5	177	11	9	0	AF
14	4,7	0,75	19,1	0,41	1,2	0,4	2,0	33	12	128	12	9	0	FA
15	4,7	0,75	19,1	0,41	1,2	0,4	2,0	33	12	128	12	9	0	FA
16	4,2	0,18	7,9	0,13	0,9	0,1	4,3	15	41	297	30	5	12	FArA
17	4,4	0,28	10,3	0,39	1,1	0,2	2,9	21	13	258	31	7	1	FA
18	4,3	0,52	13,4	0,47	1,7	0,6	2,9	31	12	265	51	8	9	FA
19	4,6	0,61	16,2	0,61	1,8	0,4	3,0	34	28	303	40	14	1	FA
20	4,9	0,57	10,0	0,81	4,3	1,2	0,7	22	37	240	39	13	2	FArA
21	4,7	0,38	8,5	0,71	2,2	0,6	1,8	19	90	353	34	18	39	FArA
22	5,0	0,47	12,0	0,60	6,3	1,0	0,4	20	27	150	31	9	14	FArA
23	5,4	0,67	12,8	0,85	6,7	1,3	0,2	25	6	126	25	12	6	FArA
24	4,4	0,54	10,6	0,44	1,4	0,7	1,3	21	121	318	9	5	7	FArA
25	4,3	0,56	11,9	0,28	0,6	0,3	1,5	22	38	180	9	5	7	FArA
26	4,5	0,42	8,7	0,45	0,9	0,5	0,9	18	46	147	8	4	15	FArA
27	4,9	0,53	13,8	0,80	2,9	1,7	2,1	21	33	149	26	7	6	FAr
28	4,6	0,47	12,7	0,89	2,9	1,7	5,0	25	67	334	35	7	2	Ar

* La localización de los lotes se encuentra en la Tabla 4

monocultivo de café a plena exposición solar (25).

Con base en los estudios de Gómez *et al.* (14) sobre los 28 suelos analizados, el 20% son Inceptisoles y como tal, presentan un desarrollo genético moderado, con alto contenido de materia orgánica con cierto grado de humificación y mineralización, lo cual les da un color negro; estos suelos poseen porosidad abundante y permeabilidad moderada. El 80% restante son Andisoles dominados por materiales amorfos (alófanos), con propiedades ándicas (10), que repercuten en su comportamiento físico, químico y en su actividad biológica porque poseen densidad aparente baja, alta retención de fosfatos,

porosidad alta y cargas dependientes del pH, entre otras características. En los Andisoles estudiados el contenido de materia orgánica alcanzó hasta el 19,1%. Cabe destacar que los nutrientes presentes en la materia orgánica o en las partículas de suelo se liberan mediante procesos que son estimulados por la presencia de asociaciones simbióticas como las endomicorizas (16).

Propagación de especies nativas de MA. El incremento de las MA nativas tardó siete meses, período durante el cual, *Brachiaria decumbens* se comportó mejor que *Pueraria phaseoloides* como planta hospedante, en las condiciones ambientales en las cuales se desarrolló esta etapa

del trabajo. La esporulación y la producción de micelio fue más alta en los cultivos trampa de *B. decumbens*. Las prácticas agronómicas como el tratamiento de la semilla, raleo de plantas al momento del transplante, poda, limpieza del suelo del invernadero, riego periódico, control de temperatura, condiciones de aireación del sustrato mediante mezclas con arena, según la textura del suelo y el control cultural de insectos y de arvenses entre otros, tuvieron buenos efectos sobre el desarrollo de los cultivos trampa ya que evitaron la competencia por absorción de nutrimentos, el daño causado por insectos en las plantas hospedantes y se estimuló la esporulación de los hongos micorrícicos a los que se les suministró un ambiente aeróbico. Según Sieverding (32), es importante mantener condiciones aeróbicas en los sustratos donde se propaguen estos simbioses obligados. Es preciso anotar que dentro del manejo agronómico de los cultivos trampa no se emplearon agroquímicos para evitar efectos negativos sobre la población de las MA. Bethlenfalvay y Linderman (2), mencionan que la aplicación excesiva de fertilizantes y herbicidas, entre otros agroquímicos, afectan el desarrollo de las endomicorrizas ya que atenúan su capacidad de penetración en la raíz y eliminan los propágulos de colonización.

La colonización de las raíces por los hongos formadores de MA ocurre a partir de azigosporas, clamidosporas o de micelio presente en una raíz colonizada. Pocos días después de iniciada la colonización se forman los arbusculos, por división dicotómica repetida de hifas intracelulares, estructuras éstas encargadas del intercambio biotrófico bidireccional entre el hongo y la planta hospedante. Las hifas intracelulares pueden atrofiarse y engloba la célula hospedante formando vesículas, órganos de reserva del hongo (24). La formación de esporas en algunas especies ocurre tres o cuatro semanas después de iniciada la colonización; otras tardan de seis meses a un año, según Hetrick y Giovannetti citados por Rivillas (24).

Con base en la biología de las MA, a los 7 meses se evaluaron los cultivos trampa encontrándose abundante presencia de micelio externo en la mayoría de éstos. En los suelos correspondientes a las localidades de Pereira; Gigante; Buenavista y Chinchiná, cultivados con *Pueraria phaseoloides* la presencia de micelio fue escasa. Estos resultados se pueden asociar con la textura arcillosa, francoarcillosa y francoarcilloarenosa de estos suelos, que incide negativamente en el desarrollo del micelio externo (29). Igualmente, la escasez de micelio en estos cultivos trampa puede ser consecuencia de los altos niveles de fósforo encontrados en los suelos, que fueron mayores a 64ppm. De acuerdo con Habte y Musoco (17), a niveles altos de fósforo el grado de dependencia micorrícica de una planta disminuye.

Análisis de laboratorio. Aislamiento de esporas. El promedio de la densidad de esporas por gramo de suelo, por lote, en cada localidad se presenta en la Figura 3. Los valores más bajos en la densidad de esporas nativas/g de suelo se encontraron en Pereira (Risaralda) y en Chinchiná (Caldas). En esta última localidad los suelos presentaron alta concentración de aluminio y las características físicas de textura arcillosa pudieron influir negativamente en la producción de esporas de MA. Rathore y Singh (26), encontraron que suelos con pH entre 6,8 y 7,5 y texturas livianas, proveen entre otras, condiciones que favorecen la esporulación.

En Pereira (Risaralda) la densidad de esporas fue de 10/g de suelo, resultado que entre otras razones indica el antagonismo y/o la especificidad que ocurre entre especies de MA (24). Esta especificidad se refiere a la influencia que pueden ejercer el pH del suelo y los contenidos de fósforo en la capacidad colonizadora y la eficiencia de algunas especies de MA.

Existen asociaciones preferenciales entre plantas y especies de micorrizas arbusculares; un ejemplo de especificidad se encontró en sue-

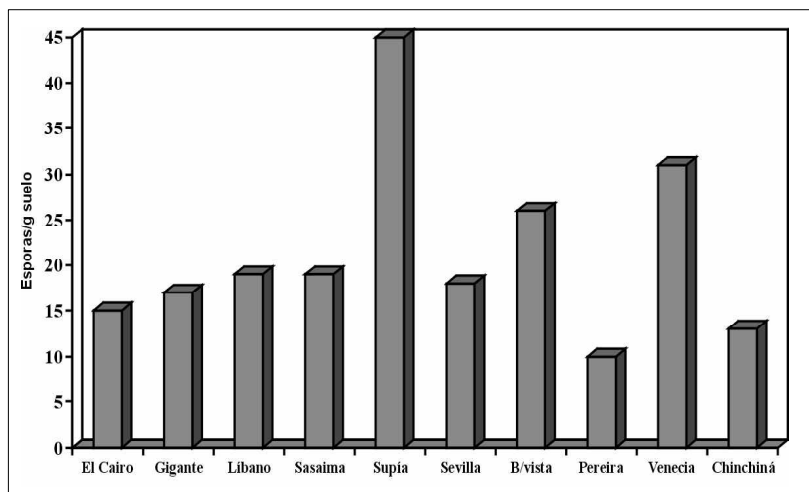


Figura 3. Densidad de esporas de Micorizas Arbusculares por gramo de suelo, en las distintas localidades.

los venezolanos donde se aisló una especie del género *Glomus* sp., la cual únicamente se pudo asociar con el hospedante de donde se aisló y no en Kudzú tropical (30).

Al igual que para el porcentaje de colonización, la densidad de esporas/g de suelo se puede asociar con características físicas y químicas del suelo, o interpretar como sinergismo entre los microorganismos. Los valores más altos en la densidad de esporas/g de suelo se presentaron en Supía (Caldas), Sasaima (Cundinamarca), El Líbano (Tolima), Buenavista (Quindío) y Venecia (Antioquia). Es posible que las prácticas agronómicas efectuadas en estas localidades favorezcan la presencia de MA nativas ya que las propiedades físicas y químicas de estos suelos se vieron menos afectadas. Estudios realizados por Michelsen y Rosendahl citados por Sieverding (32), demuestran que entre menos transformado esté un suelo más alta será la población de micorizas arbusculares.

Los valores de nivel de colonización y de densidad de esporas registrados en este estudio fueron altos según los patrones de evaluación empleados por CIAT (16) y comparados con el promedio de los valores (16-51% en campo y

13,8% en invernadero) encontrados por Siqueira (35).

Endomicorizas en raíces (colonización). Los niveles de colonización de las MA en las raíces de café indicaron que en los ecosistemas edáficos con mayor contenido de materia orgánica (16 al 19%) y menores contenidos de fósforo (4 a 6ppm), la presencia de las endomicorizas fue más abundante en relación con los ecosistemas que presentaron niveles altos de fósforo (mayores de 30ppm) donde fue reiterada la aplicación de fertilizantes.

En la Figura 4 se presentan los valores de colonización radical en las 10 localidades estudiadas. La localidad donde se encontró el más alto nivel de colonización en las raíces fue Supía (Caldas) con valores desde 48 hasta 92%, donde el cultivo de café estaba asociado con guamos (*Inga edulis*). Según Saif citado por Marschener (19), estos resultados pueden indicar que existen relaciones de sinergismo entre las diferentes simbiosis: endomicorizas y microorganismos de los géneros *Rhizobium* o *Bradyrhizobium*.

Los microorganismos solubilizadores de fósforo se incluyen en esta relación sinérgica ya que

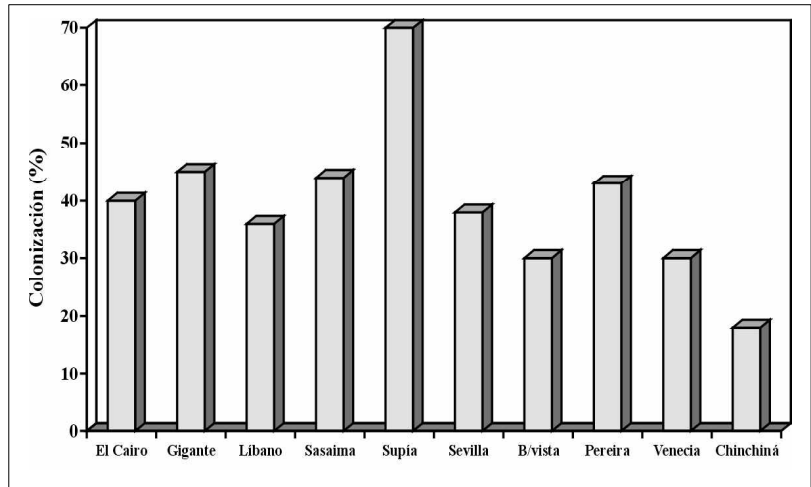


Figura 4. Colonización de raíces de plantas de café por Micorizas Arbusculares, en las distintas localidades.

existe alta demanda de este nutriente para el proceso de fijación biológica de nitrógeno. Sieverding (30) menciona que hay evidencias de una interacción tripartita entre la asociación endomicorrizas - leguminosas - *Rhizobium*. Igualmente ocurre con los actinomicetos del género *Frankia* y plantas no leguminosas.

En Sasaima (Cundinamarca) el análisis químico del suelo determinó contenidos de fósforo entre 4 y 12ppm, valores considerados como bajos. Según Dodd citado por Rivillas (24), la habilidad del sistema micorrícico para absorber nutrientes depende del desarrollo del micelio externo y es más evidente bajo condiciones de deficiencia de fósforo. En Pereira, el nivel promedio de colonización fue del 43%, resultado que puede explicarse principalmente por la edad del cultivo (20 años). Varios reportes asocian la presencia y cantidad de MA con la edad de las formaciones vegetales (16). En las muestras colectadas en esta localidad se observó una gran cantidad de células auxiliares, estructuras que son características de los géneros *Gigaspora* y *Scutellospora* (Figura 5).

En algunas localidades se encontró abundante presencia de micelio, vesículas de formas y

tamaños variados, arbuscúlos y en algunas placas se observaron esporas intra-radicales. Además se observaron unas estructuras ovaladas y encadenadas al interior de las células (Figura 6).

Los suelos de las localidades ubicadas en los departamentos del Tolima, Valle, Quindío y Antioquia están clasificados en la categoría de orden como Andisoles y los niveles de colonización en las raíces de plantas de café cultivadas allí estuvieron entre 25 y 45%. Estos están relacionados con las propiedades físicas y químicas de los suelos y con interacciones entre la biota del suelo, específicamente con relaciones de sinergismo entre fijadores de nitrógeno y endomicorrizas, como se mencionó anteriormente. En la Figura 4 se aprecia que los valores más bajos en los niveles de colonización se encontraron en Chinchiná (Caldas), resultado que coincide con la reiterada fertilización fosfórica que incrementó el contenido de este nutriente en el suelo. Niveles de 33 a 67ppm de fósforo y el contenido de materia orgánica del suelo así lo indican. En esta localidad, uno de los lotes estudiados contenía 8,7% de M.O., y en estudios realizados por Sieverding y Toro (31) se encontró correlación entre la población de MA y el contenido edáfico de materia orgánica.

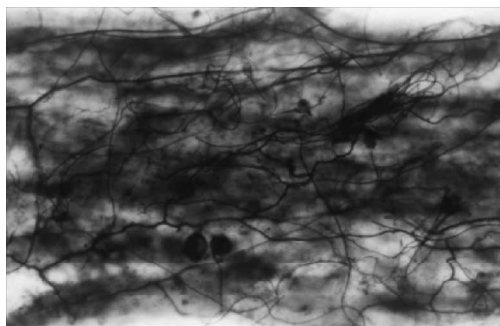


Figura 5. Micelio externo de Micorrizas Arbusculares (Primario).

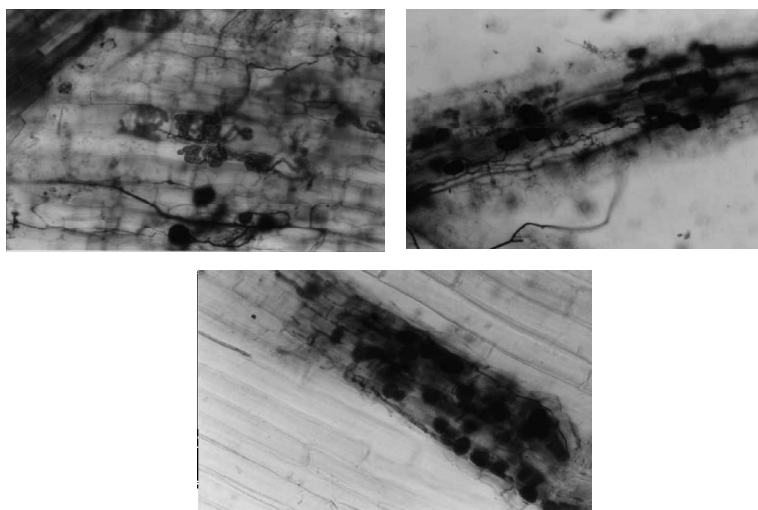


Figura 6. Estructuras intracelulares (diferentes tipos de vesículas, micelio y arbusculos).

En estas condiciones la cantidad de MA disminuyó con respecto a la población encontrada en otros ecosistemas; resultado similar a los estudios de Siqueira (33), donde a mayor fertilidad del suelo se observa menor población de MA (Figuras 3 y 4).

Identificación taxonómica de MA. La diversidad de especies de MA nativas fue alta (Tabla 4), si se considera que los muestreos se realizaron en ecosistemas con características comunes de temperatura (rango entre 19,4 y 21,4°C) y que la planta hospedante fue una sola especie: *Coffea arabica*. Se identificaron un total de 20 especies

de MA pertenecientes a los seis géneros de endomicorrizas conocidas actualmente (16) (Figura 7). Las MA de mayor prevalencia en las localidades estudiadas fueron: *Acaulospora mellea* y *Glomus occultum*, especies que ya habían sido registradas en un Andisol cubierto con bosque nativo en Cenicafé, Chinchiná, Caldas (24). Estas dos especies se aislaron en Supía y en Sasaima, donde se registraron los valores más altos en el porcentaje de colonización y la más alta densidad de esporas/g de suelo, por lo que podría inferirse que estas especies requieren de menor tiempo para esporular y/o, que están más adaptadas a suelos cafeteros (Dodd, 1995 ;

TABLE 4. Distribución de las especies de endomicorizas identificadas en las diferentes localidades

Especies	Cienfuegos		Santiago de Cuba		S. de las Tunas		S. de las Virgenes		S. de las Yaguajayes		S. de las Yaguajayes		S. de las Yaguajayes	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
<i>A. vesiculosus</i> ¹	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>A. apiculatus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>A. fimbriatus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>A. strabus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>A. melleus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>A. foveatus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>A. rotundatus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Gig. sp. (Gigastrophora sp.)</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>G. aculeatus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>G. maculatus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>G. fimbriatus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>G. "debris waldii" sp.</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>G. leucostoma</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>G. "pauzei" sp.</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>G. foveatus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>G. "mulleri" sp.</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>G. melleus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Gigastrophora melleus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Gigastrophora melleus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

¹ A: Acaulospora; E: Entrophospora; G: Glomus; Gig: Gigaspora

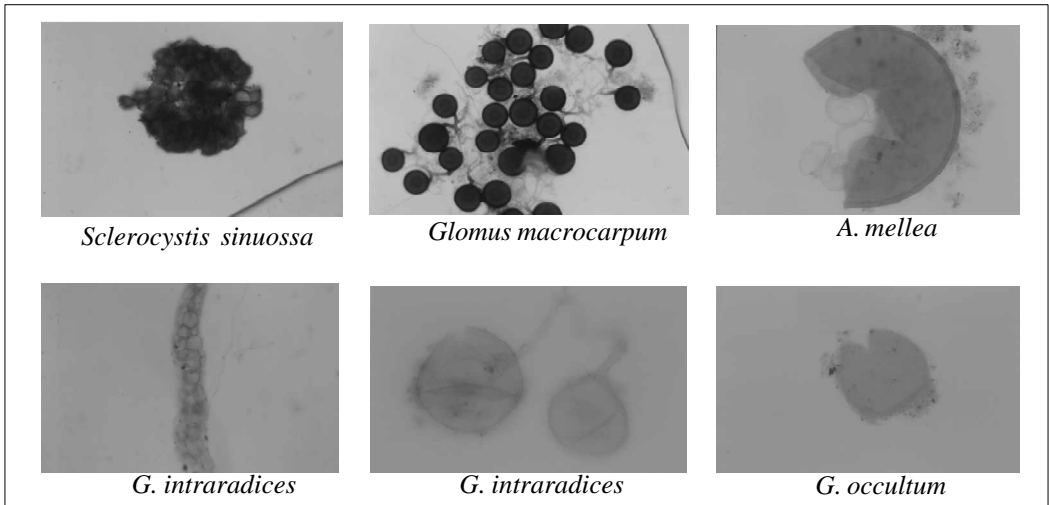


Figura 7. Esporas de los géneros *Acaulospora*, *Glomus* y *Sclerocystis*

Scannerini y Bonfante-Fasolo, 1993; Hetrick, 1994; Giovannetti *et al.*, 1994; citados por Rivillas (24)

E.colombiana es otra especie identificada en este estudio, registrada como efectiva colonizando raíces de café (31) con una alta especificidad en suelos ácidos. Rivillas (24), encontró buenos resultados en café cuando incrementó esta especie en un sustrato inerte (terragreen) mezclado con suelo proveniente de Planalto, Cenicafé. Algunas especies de MA, tales como *A. mellea*, *G. occultum* y *G. intraradices* estaban presentes en la mayoría de los suelos muestreados. Tanto en el análisis de identificación realizado en Colombia como en el de Inglaterra, se encontró abundante presencia de esporas de *G. intraradices*, especie que se aisló en Gigante (Huila), Chinchiná (Caldas) y Líbano (Tolima) (3).

Vaast y Zasoski, citados por Rivillas (24) encontraron que plántulas de *Coffea arabica*, inoculadas con *G. intraradices* crecieron mejor y contenían más nitrógeno acumulado, calcio y magnesio que plántulas no micorrizadas. Este

resultado permite pensar que en algunos suelos cafeteros la fertilización indiscriminada afecta y compromete la población de especies nativas.

Sclerocystis sinuosa sólo se propagó a partir de suelo colectado en Sevilla (Valle). Esta fue la única especie del género *Sclerocystis* identificada en este estudio y ha sido aislada en ecosistemas naturales, en suelos que presentan alto nivel de fertilidad. En este trabajo se aisló de un suelo del Valle del Cauca con un bajo contenido de fósforo (37ppm); asociadas a ésta se encontraron *Glomus invermaium*, *G. occultum*, *Scutellospora sp.*, *A. mellea* y *A. appendicula*.

Las localidades donde la diversidad de MA fue mayor, están ubicadas en los departamentos del Tolima, Quindío, Antioquia y Valle. Dentro de éstas sobresale Sevilla (Valle), en donde se aislaron siete especies pertenecientes a los 6 géneros. Los suelos de estas localidades presentan texturas livianas que pueden contribuir a la esporulación de estos simbiontes aeróbicos (23). Sin embargo, los factores que controlan la colonización endomicorrízica en campo actúan de modo muy complejo, para lo cual es necesario

relacionar la población de MA con las características químicas del suelo, según Fernández y Siqueira citados por Siqueira (33)

Análisis estadístico. La Tabla de contingencia propuesta mostró que las especies de MA aisladas e identificadas no pertenecían al mismo género. El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas en la densidad de esporas presentes en los suelos estudiados, no sólo en las 10 localidades sino también en los 28 lotes.

Los análisis de correlación lineal simple (Pearson) permitieron determinar la baja relación (0,41641) entre la densidad de esporas/g de suelo y la colonización de raíces por las MA (Tabla 5). Lo anterior, posiblemente sea consecuencia de las diferentes épocas en las que se realizaron los muestreos y del manejo agronómico de los cultivos. De acuerdo con Sieverding (30), el clima (Tabla 2) y concretamente la humedad del suelo, tienen gran influencia en las tasas de colonización de las raíces por las MA.

Pueden existir factores desconocidos en los ecosistemas naturales como la toxicidad de aluminio, que suprimen o limitan la esporulación de estos hongos, más no la colonización (36).

De acuerdo con los resultados anteriores puede afirmarse que las MA están asociadas a la rizosfera de *Coffea arabica* y por tanto, deben

considerarse como habitantes naturales de los ecosistemas cafeteros en virtud de su presencia y variabilidad en las diferentes condiciones edafoclimatológicas estudiadas. En trabajos realizados en CIAT (6), se encontró que si se afectan las condiciones edáficas mediante prácticas agrícolas como la fertilización y aplicación de pesticidas se modifica el desarrollo de la simbiosis micorrícica. En yuca, la fertilización con nitrógeno y fósforo disminuyó el nivel de colonización mientras que la fertilización con potasio la aumentó. En este cultivo también se evaluó el efecto de algunos pesticidas sobre las MA, observándose un efecto negativo de estos agroquímicos sobre el desarrollo de las raíces colonizadas y la esporulación de estos hongos, especialmente cuando se combinan con insecticidas.

Los resultados de investigaciones anteriores así como los de ésta, conducen a que las recomendaciones de fertilización con elementos mayores y otras prácticas agronómicas no deben realizarse solamente pensando en los altos rendimientos esperados, sino también, con base en la población y actividad biológica de los diferentes microorganismos. La actividad de la biota del suelo, incluidas las MA, es benéfica y aunque no produce iguales resultados que los obtenidos con la fertilización química, el componente biológico debe considerarse dentro del manejo integrado de los suelos para alcanzar niveles de productividad rentables sin deterioro de los agroecosistemas.

La mayor población y diversidad de MA, así como la de otros organismos del suelo es evidentemente mayor en ecosistemas menos disturbados (37). En café estas condiciones se encuentran en los cultivos bajo sombrío de plátano o de especies arbóreas como nogales y guamos, o con coberturas como *Arachis pintoi* y con bajos niveles de fertilización química. En este estudio las asociaciones de café con leguminosas mostraron una mayor población de MA, que ya ha sido mencionada por Saif (27) quien encontró

TABLA 5. Análisis de correlación entre densidad de esporas/g de suelo y colonización radical (%).

Localidad	Correlación	Significancia
El Cairo	- 0,01665	0,7974
Gigante	- 0,23037	0,0012
Líbano	- 0,34592	0,0001
Sasaima	- 0,05829	0,4182
Supía	0,34022	0,0001
Sevilla	0,00360	0,9670
Buнавista	- 0,14584	0,0801
Pereira	0,11569	0,1586
Venecia	0,01753	0,8625
Chinchiná	- 0,13341	0,0926

relaciones de sinergismo entre la simbiosis micorrícica y el *Rhizobium* de las leguminosas.

Para garantizar la conservación del recurso suelo como cuerpo natural vivo, que sirve de sustento para las plantas, debe reconocerse la importancia del papel que desempeñan los diferentes grupos de organismos en los procesos de solubilización, mineralización, inmovilización y humificación entre otros, considerados de suma importancia en la dinámica de nutrimentos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la colaboración del personal de Experimentación Regional; Disciplinas de Química Agrícola y Fitopatología de CENICAFE; a los doctores R. Thomas y I. Rao del CIAT y al Dr. John Dodd de la Universidad de Kent (Inglaterra).

LITERATURA CITADA

1. ARANGOR., C. Efecto de la M.V.A. en la producción de café, c.v. Colombia, con dos niveles de fertilización. *Agronomía* 5(1):25-38. 1992.
2. BETHLENFALVAY, G.J.; LINDERMAN, R.G. Mycorrhizae in sustainable agriculture. Madison, American Society of Agronomy, 1992, 124 p. (ASA Special Publication N° 54).
3. BOLAÑOS B., M.M. Identificación de hongos micorrícicos arbusculares y su relación con características físicas y químicas de los suelos en la zona cafetera Colombiana. Santafé de Bogotá, Universidad Nacional de Colombia, 1996. 122 p. (Tesis de Maestría en Suelos).
4. BRAVO G., E.; GOMEZ A., A. Capacidad de fijación de fósforo en seis unidades de suelos andosólicos de la zona cafetera colombiana. *Cenicafé* 25(1):19-29. 1974.
5. CARRILLO P., I.F. Manual de laboratorio suelos. Chinchiná, Cenicafé, 1985. 111 p.
6. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL-CIAT Cali. Colombia. Informe del proyecto micorriza. Palmira, CIAT, 1993. p. 25.
7. CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFÉ-Cenicafé, Chinchiná, Colombia. Archivo de datos climatológicos de la Disciplina de Agroclimatología. 1986-1993. Chinchiná, Cenicafé, 1993.
8. COLOZZI FILHO, A.; SIQUEIRA, J.O. Micorizas vesículo - arbusculares em mudas de cafeeiro. I. Efeitos de *Gigaspora margarita* e adubacao fosfatada no crescimento e nutricao. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo* 10(3):199-205. 1986.
9. COLOZZI FILHO, A.; SIQUEIRA, J.O.; SAGGIN JUNIOR, O.J.; GUIMARAES, P.T.G.; OLIVEIRA, E. Efetividade de diferentes fungos micorrízicos arbusculares na formacao de mudas, crescimento pós-transplante e producao do cafeeiro. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 29(9):1397-1406. 1994.
10. COMITÉ PARA RECONOCIMIENTO DE SUELOS-SANTAFÉ DE BOGOTÁ. COLOMBIA. Claves de taxonomía de suelos. 6. ed. 1994.
11. ESTRADA M., G.; SÁNCHEZ De P., M. Dependencia del café (*Coffea arabica* L.) variedad Colombia por la micorriza vesículo arbuscular. *Acta agronómica* 45(1):85-88. 1995.
12. GERDEMANN, J.W. Vesicular - arbuscular mycorrhizal. In: TORREY, J.G.; CLARCKSON, D.T. eds. The development and function of roots; Third Cabot Symposium. London, Academic Press, 1975. p. 575-591.
13. GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46:235-244. 1963.
14. GOMEZ G., L.; CABALLERO R., A. BALDION R., J.V. Ecotopos cafeteros. Santafé de Bogotá. Federacafé. 1991. 131 p.
15. GRISALES G., A. Suelos de la zona cafetera; clasificación y uso. Medellín, Fondo Cultural Cafetero, 1977. 142 p.

16. GUERRERO F., E. Endomicorrizas. Fundamentos biológicos y estado del arte. *In: Endomicorrizas; Recurso biológico del suelo.* Bogotá, FEN, 1996. 40 p.
17. HABTE, M.; MUSOKO, N.B. Response of *Sauropus androgynus* to soil phosphorus concentration and mycorrhizal colonization. *Journal of Plant Nutrition* 17 (2-3) 511 - 521. 1994.
18. LOPES, E.S.; OLIVEIRA, E. DE; DIAS, R.A.; SCHENCK, N.C. Occurrence and distribution of vesicular - arbuscular - mycorrhizal. fungi in coffee (*Coffea arabica* L.) plantations in Central Sao Paulo State, Brazil. *Turrialba* 3(4):417-422. 1983.
19. MARSCHNER, H.; DELL, B. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant and Soil* 159:89-102. 1994.
20. OROZCO P., F.H. Efecto de la inoculación con hongos formadores de micorrizas vesicular arbuscular en café *Coffea arabica* var. Colombia. *Suelos Ecuatoriales* 18(2):213-219. 1988.
21. PARRA L., M.; SANCHEZ DE P., M.; SIEVERDING, E. Efecto de la M.V.A. en plántulas de café (*Coffea arabica* L. var. Colombia) en almacigo. *Acta Agronómica* 40(1-2): 88: 99. 1990.
22. PHILLIPS, J.M.; HAYMAN, D.S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55:158-161. 1970.
23. RATHORE, V.P.; SINGH, H.P. Quantification and correlation of VAM propagules with soil properties of some mollisoles of Northern India. 1996. s.p.
24. RIVILLAS O., C.A. The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on two different coffee varieties from Colombia and their biochemical detection in roots. Kent. Research School of Biosciences, University of Kent, 1995. 88 p. (Tesis: Magister Science).
25. SAGGIN JUNIOR, O.J.; SIQUEIRA, J.O. Avaliacao da eficiencia simbiótica de fungos endomicorrízicos para o cafeeiro. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo* 19(2):221-228. 1995.
26. SANCHEZ DE P., M. Endomicorrizas en agroecosistemas colombianos. Palmira, Universidad Nacional de Colombia, 1999. 227 p.
27. SAIF, S.R. Interacción de *Rhizobium* - endomicorrizas VA en leguminosas tropicales. *In: Investigaciones sobre endomicorrizas en Colombia.* 2. ed. Palmira, CIAT, 1989. p. 15-43.
28. SCHENCK, N.C.; PÉREZ, Y. Manual for the identification of V.A. mycorrhizal fungi. 3. ed. Florida, Editorial University of Florida, 1990. 286 p.
29. SIEVERDING, E. Aspectos de la taxonomía y la identificación de hongos formadores de endomicorrizas V.A. *In: Investigaciones sobre endomicorrizas en Colombia.* 2 ed. Palmira, CIAT, 1989. p. 209-223.
30. SIEVERDING, E. Vesicular - arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. Eschborn, GTZ, 1991. 371 p.
31. SIEVERDING, E.; TORO, S. Evaluación cuantitativa y cualitativa de hongos formadores de M.V.A. en la región de Mondomo, Colombia. *In: Congreso Latinoamericano, 9; Congreso Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo* 3. Cali, Agosto 26-30, 1985. Resúmenes. Cali, Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo, 1985.
32. SIEVERDING, E.; SANCHEZ, M.; BRAVO, N. Investigaciones sobre endomicorrizas en Colombia. Palmira, Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias, 1989. p. 122-129.
33. SIQUEIRA, J.O. Mycorrhizal benefits to some crop species in a P-deficient oxisol of Southeastern Brazil. *In: SYLVIA, P.M.; HUNG, L.L.; GRAHAM, J.H. Mycorrhizae in the next decade. practical application and research priorities.* Gainesville, University of Florida, 1987. p 59.
34. SIQUEIRA, J.O. Eficiencia de fertilizantes fosfatados em associacoes micorrízicas. *In: Encontro nacional de rocha fosfática,* 5. Sao Paulo, 1990. Anais. Sao Paulo, IBRAFOS, 1990. p. 165-193
35. SIQUEIRA, J.O. Avancos en fundamentos e aplicacao de micorrizas. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 1996. 290 p.
36. SIQUEIRA, J.O.; HUBBELD.H.; MAHMUDA.W. Effect of liming on spore germination, germ tube

- growth and root colonization by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 76:115-124. 1984.
37. SMITH, S.E. Nutrients transport in mycorrhizas: Structure, physiology and consequences for efficiency of the symbiosis. *Plant and Soil* 159:103-113. 1994.
38. SUAREZ V., S. Caracterización física de los suelos de la zona cafetera. Chinchiná, Cenicafé, 1991. (Seminario Agosto 16, 1991).
39. TRAPPE, J.M. Synoptic keys to the genera and species of *Zigomycetos* mycorrhizal fungi. *Phytopathology* 72:1102-1108. 1982.
40. URIBE H., A.; MESTRE M., A. Efecto del nitrógeno, el fósforo y el potasio sobre la producción de café. *Cenicafé* 27(4):158-173. 1976.