
DEPENDENCIA MICORRÍCICA DE BARCINO (CLUSIACEAE: *CALOPHYLLUM BRASILIENSE* CAMBERS)

MYCORRHIZAL DEPENDENCE OF BARCINO (CLUSIACEAE: *CALOPHYLLUM BRASILIENSE* CAMBERS)

Jorge A. Sierra-Escobar^{1,3}, Dagoberto Castro-Restrepo^{1,4}, Walter Osório-Vega^{2,5}

Resumen

Se realizó un experimento en invernadero, cuyo objetivo fue determinar la dependencia micorrícica de barcino (*Calophyllum brasiliense* Cambers). Para lo cual se utilizó un diseño experimental completamente al azar. Los tratamientos tuvieron un arreglo factorial 3 x 2 con cinco repeticiones, que consistieron en la combinación de tres concentraciones de fósforo (P) en la solución del suelo (0,002, 0,02 y 0,2 mg l⁻¹) con 2 niveles de inoculación micorrizal de *Glomus aggregatum* Schenck y Smith, modificado por Koske (inoculado y no inoculado). Se emplearon como variables respuesta el contenido de P foliar en función del tiempo. Al momento de la cosecha, se determinaron la masa seca aérea (MSA), el P total absorbido (PTA) en la parte aérea, la colonización micorrizal y la dependencia micorrizal (DM). Los resultados indican que el contenido de P foliar no tuvo variaciones significativas en relación a la inoculación micorrizal. El contenido de P total absorbido no varió al igual que la masa seca aérea. No se presentó colonización micorrizal en ninguno de los tratamientos. Finalmente, no hubo dependencia micorrizal con *G. aggregatum* de barcino, ubicando a esta especie dentro de la categoría independiente, al menos en las condiciones del estudio.

Palabras clave: dependencia micorrizal, fósforo, *Calophyllum brasiliense*, *Glomus aggregatum*

Abstract

A greenhouse bioassay was carried out to determine the mycorrhizal dependency of barcino (*Calophyllum brasiliense* Cambers), using a completely randomized experimental design. Treatments were arranged in a 3 x 2 factorial design with five repetitions, that consisted of combinations of three concentrations of phosphorus (P) in the soil solution (0.002, 0.02, and 0.2 mg l⁻¹), with two levels of mycorrhizal inoculation with *Glomus aggregatum* Schenck and Smith, modified by Koske (inoculated and not inoculated). Leaf P content as a function of time was the response variable. Shoot dry matter (MSA), shoot P content (PTA), mycorrhizal colonization of roots, and mycorrhizal dependency (DM) were measured at harvest. The results indicated that foliar P content did not vary significantly with mycorrhizal inoculation. The total P content absorbed did not vary, nor did aerial dry mass. Mycorrhizal colonization with *G. aggregatum* was not documented in any of the treatments. Finally, barcino showed no mycorrhizal dependence to *G. aggregatum*, placing this species in the independent category, at least under the conditions of this study.

Key words: mycorrhizal dependency, phosphorous, *Calophyllum brasiliense*, *Glomus aggregatum*

Recibido: febrero 2012; aceptado: octubre 2012.

¹ Grupo de estudios florísticos. Universidad Católica de Oriente. A. A. 050956 Rionegro. Rionegro (Antioquia), Colombia.

² Grupo de Microbiología de suelos. Universidad Nacional de Colombia sede Medellín. Medellín (Antioquia), Colombia.

Correos electrónicos: ³<jsierra@uco.edu.co>; ⁴<dcastro@uco.edu.co>; ⁵<nwosorio@unal.edu.co>.

INTRODUCCIÓN

Las micorrizas son asociaciones simbióticas benéficas entre las raíces de las plantas y algunos hongos del suelo, se cree que estos hongos forman mutualismos con el 95% de las plantas terrestres (Sanchez 1999). Existen varios tipos de hongos micorrícicos (ectomicorrizas, endomicorrizas y ectendomicorrizas) que se diferencian entre sí por sus características morfo-anatómicas, y por las plantas hospederas que colonizan (Brundrett 2002, Silvia et al. 2005). Las endomicorrizas o hongos micorrizo arbusculares (**HMA**), son el grupo más representativo formando asociaciones con el 80% de las especies de plantas, principalmente tropicales (Schüßler et al. 2001, Silvia et al. 2005). Son varios los beneficios para las plantas derivados de la simbiosis, por ejemplo, se incrementa la captación de nutrientes por parte de la planta, especialmente P, Cu, y Zn (Bolan 1991, Johansen et al. 1993, Jakobsen et al. 1992b, Sieverding 1991), se mejora la estructura del suelo, se aumenta la resistencia de la planta al estrés biótico y abiótico, se favorece las interacciones con otros microorganismos benéficos (Barea et al. 2002, Elsen et al. 2003, Haselwandter y Bowen 1996, Johansson et al. 2004, Mansfeld et al. 2002, Sieverding 1991). Pero no todas las plantas reciben estos beneficios debido a que no realizan simbiosis con los HMA, o pueden hacerlo con diferente intensidad. En este sentido, Plenchette et al. (1983) determinaron que la dependencia micorrizal (**DM**) varía para cada especie, definiendo así DM como el grado en el cual una especie de planta es dependiente sobre la condición micorrizal para producir su máximo crecimiento o rendimiento con un nivel de fertilidad de suelo dado. Numerosos estudios de DM se han realizado utilizando la fórmula de Plenchette et al. (1983), en Colombia se registran algunos artículos con especies de plantas nativas e introducidas como *Coffea arabica* (Jaramillo y Osorio 2009), *Ocotea* sp. (Sierra et al. 2009), *Persea americana* (Montoya y Osorio 2009) y

Solanum quitoense (Gonzalez y Osorio 2008). A pesar de su reconocida importancia, es poco lo que se conoce sobre DM en especies arbóreas nativas, este dato sería fundamental si queremos profundizar en el manejo efectivo de las especies autóctonas, como por ejemplo para usos en restauración, conservación *ex situ*, enriquecimiento de bosques entre otros. En este sentido, se escogió para el estudio de DM a la especie *Calophyllum brasiliense* Cambess., árbol perteneciente a la familia Clusiaceae, de gran importancia ecológica y etnobotánica, que se encuentra en el interior de bosques maduros o secundarios muy maduros hasta los 2.100 m de altitud, su uso y tala la han llevado a un dramático descenso de sus poblaciones (Vargas 2002), siendo prioritario su repoblamiento. Por tal motivo, el objetivo principal del presente estudio fue determinar la dependencia micorrícica de barcino (*C. brasiliense*).

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio. El experimento de dependencia micorrizal (**DM**) se realizó en el invernadero de la Universidad Católica de Oriente, Rionegro (Antioquia), Colombia (6° 9' 15,2" N, 75° 22' 10,4" O y altitud de 2.112 m). El sitio presenta, una temperatura promedio de 17 °C y una precipitación anual de 1.700 mm y se ubica en la zona de vida bosque húmedo montano bajo (Holdridge 1978).

Metodología. *Suelo.* El suelo utilizado para el experimento correspondió a una muestra del horizonte subsuperficial (**Bw**) de un andisol de la estación experimental Piedras Blancas (6° 15' 38" N, 75° 30' 23" O; altitud 2.484 m), para reducir la influencia del fósforo (**P**) orgánico sobre el P disponible. El suelo se secó al aire y se tamizó a 4 mm y luego se analizó en el Laboratorio de Suelos de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. El pH del suelo se ajustó a 5,9 con 2 g de CaCO₃ por kg de suelo para evitar niveles altos de aluminio

y optimizar la solubilidad de P. Para determinar el requerimiento de cal se realizó una curva de incubación con CaCO_3 (Uchida y Hue 2000). El suelo se esterilizó con vapor a 80°C durante una hora. La fertilización del sustrato consistió en la adición de (mg kg^{-1}): urea 0,17, $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,73, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,93, y K_2SO_4 0,21. Asimismo, se aplicó P en forma de KH_2PO_4 para obtener tres concentraciones de P en la solución del suelo 0,002-0,02 y 0,2 mg l^{-1} según lo propuesto por Habte y Manjunath (1991). Para este fin se realizó una isoterma de adsorción de P de acuerdo al método de Fox y Kamprath (1970) cuyos resultados se muestran en la (figura 1). Las cantidades de KH_2PO_4 fueron 2-3,8 y 17,6 g kg^{-1} . Luego, el sustrato estéril y fertilizado se transfirió a bolsas plásticas con dimensiones de 13 cm de diámetro y 19,5 cm de alto.

Cada unidad experimental recibió quincenalmente la solución nutritiva Hogland libre de P a las siguientes dosis (mg l^{-1}): N 50, K 132, Mg 106, S 204, Zn 10, Cu 5, B 0,8 y Mo 0,5. El sustrato se mantuvo entre un 50-60% de la máxima capacidad de retención de agua (39 y 47%, respectivamente), para lo cual se aplicó agua corriente o la solución nutritiva mencionada.

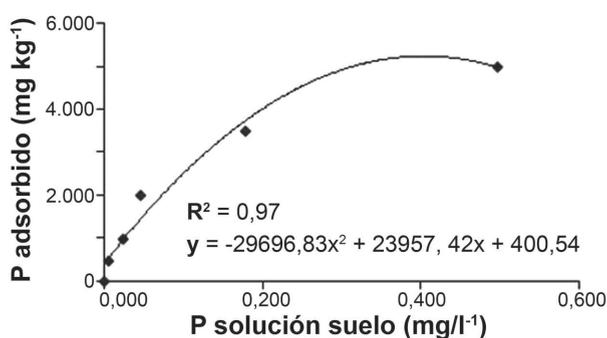


Figura 1. Isoterma de adsorción de fósforo (P) para el suelo de Piedras Blancas (Medellín, Antioquia), Colombia

Muestras biológicas. La especie utilizada en el experimento fue barcino (*Calophyllum brasiliense* Cambess.) perteneciente a la

familia Clusiaceae. Semillas de barcino fueron suministradas por Corantioquia (Programa de conservación de flora y fauna) y se obtuvieron de una fuente semillera identificada ubicada en el municipio de Jardín (Antioquia), Colombia. Todas las semillas se lavaron con agua destilada, se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1%, se transfirieron a bandejas de germinación (temperatura ambiente) que contenían arena esterilizada hasta su germinación. Una vez germinadas cada plántula de barcino se trasplantó a potes plásticos que contenían arena estéril donde permanecieron hasta alcanzar 10 ó 15 cm de altura, para posteriormente pasarlas a bolsa plástica en su respectiva unidad experimental.

Se utilizó un inóculo puro de *Glomus aggregatum* Schenck y Smith modificado por Koske de efectividad comprobada, el cual contenía esporas, fragmentos de raíces infectadas e hifas del hongo suspendidas en una matriz sólida compuesta por suelo y cuarzo (1:1). El inóculo tuvo 8.500 propágulos micorrizales infectivos por kg de suelo determinado por el método del número más probable (NMP) (Porter 1979). Este hongo fue originalmente suministrado por M. Habte de la Universidad de Hawaii (Honolulu, U. S. A.) y multiplicado en raíces de sorgo y kudzu (Habte y Osorio 2001). Su efectividad para incrementar la absorción de P y el crecimiento vegetal en suelos con bajo contenido de P soluble ha sido comprobada por Gonzalez y Osorio (2008), Jaramillo et al. (2004) y Osorio et al. (2008). Al momento de la siembra, 20 g de inóculo crudo de *G. aggregatum* por kg de suelo se mezclaron uniformemente en cada unidad experimental. El suelo no inoculado recibió 20 g de suelo estéril por kg, además de filtrados de una suspensión del inóculo crudo (10%) luego de remover las estructuras de los hongos con papel filtro Schleicher y Schuell (tamaño de poro: 2 μm).

Tratamientos. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar. Los tratamientos tuvieron un arreglo factorial 3



Figura 2. Técnica de muestreo del disco de hoja en plantas de barcino (*Calophyllum brasiliense* Cambers)

x 2 con cinco plántulas por tratamiento; los tratamientos consistieron en la combinación de tres niveles de P (0,002-0,02 y 0,2 mg l⁻¹) con 2 niveles de inoculación micorrizal de *G. aggregatum* (inoculado y no inoculado).

Se realizaron mediciones periódicas del contenido de P en las hojas jóvenes completamente maduras (Habte y Osorio 2001). Para tal fin, una porción circular del tejido foliar se removió con un perforador (6 mm de diámetro) (figura 2). El contenido de P se expresó en términos de µg por disco de hoja. El P fue determinado por el método del azul de molibdato (Murphy y Riley 1962) luego de reducir los discos de hoja a cenizas en mufla a 500 °C por 3 h. Este método de muestreo no destructivo fue originalmente propuesto por Aziz y Habte (1987).

Al final del período de crecimiento de las plantas se cosechó la parte aérea de las plántulas. Las muestras se llevaron a estufa y se secaron a 60 °C durante 72 horas. Luego se determinó la masa seca aérea (MSA). EL fósforo total absorbido (PTA) en la parte aérea fue determinado al final de la cosecha como se describió anteriormente. Para esto se utilizó la concentración de P en el disco de hoja al momento de la cosecha (Habte et al. 1987). Para la colonización micorrizal (CM) las raíces finas de las plantas se sometieron a KOH para aclaración de las raíces (Phillips y Hayman 1970), luego se tiñeron con fucsina ácida (Kormanik et al. 1980) y posteriormente se determinó la colonización micorrizal siguiendo

el método del intercepto de cuadrícula propuesto por Giovannetti y Mosse (1980). Con los datos de masa seca total (masa seca aérea), se determinó la dependencia micorrizal (DM) usando para ello la fórmula propuesta por Plenchette et al. (1983). La DM se clasificó de acuerdo a lo propuesto por Habte y Manjunath (1991):

$$DM = \frac{\text{masa seca de plantas colonizadas} - \text{masa seca de plantas no colonizadas}}{\text{masa seca de plantas colonizadas}} \times 100$$

Análisis estadístico. Los datos obtenidos se sometieron al análisis de varianza (prueba F) para determinar si existían diferencias significativas en función de los tratamientos. La prueba de la diferencia mínima significativa (LSD) se usó para separar promedios con respecto al control no inoculado en cada uno de los niveles de P. Para los análisis estadísticos se empleó un nivel de significancia (P) ≤ 0,05 y se utilizó el paquete estadístico StatGraphics versión 4.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El sustrato de crecimiento arrojó los siguientes resultados: arena 92%, limo 4%, arcilla 4%, textura A (Bouyucos), pH 5,7 (agua, 1:1, V:V), materia orgánica 11% (Walkley y Black), calcio, magnesio y potasio, 1,7-0,1 y 0,05 cmol_c kg⁻¹ (acetato de amonio 1M, pH 7), respectivamente; fósforo 1 mg kg⁻¹ (Bray II); hierro, manganeso, cobre y zinc 64, 1,1 y 1 mg kg⁻¹ (Olsen-EDTA); boro no detectable mg kg⁻¹ (agua caliente); nitrato 3 mg kg⁻¹ (sulfato de aluminio 0,025M) y amonio 18 mg kg⁻¹ (KCl 1M).

Con respecto a la inoculación micorrizal con *G. aggregatum*, esta no tuvo efectos significativos sobre el contenido de P foliar en barcino en los niveles de P evaluados en la solución de suelo y para todas las fechas de muestreo. En la figura 3, se aprecia que no existen diferencias entre los tratamientos inoculados y no inoculados cuando se compara un mismo nivel de P. Por otro lado, cuando se comparan las concentraciones diferentes de P (0,2-0,02 y 0.002 mg l⁻¹), la concentración de P en la solución del suelo de 0,2 mg l⁻¹ incrementó significativamente el contenido de P foliar (independientemente si el tratamiento estaba inoculado) en todos los días de muestreo con valores superiores a 2,6 µg/disco, resultado diferente de las otras concentraciones de P con valores inferiores a 1,8 µg/disco (figura 3). La concentración de P en la solución de suelo de 0,2 mg l⁻¹ reflejó incrementos significativos en el P foliar, aunque dichos incrementos no se manifestaron en el crecimiento vegetal cuando se evaluó su masa (figura 4), resultados similares fueron observados en *Retrophyllum rospigliosii* en el mismo nivel de P (0,2 mg l⁻¹) que a pesar de una alta concentración de P foliar no hubo aumento de su masa (Osorio et al. 2008).

La MSA no presentó diferencias significativas entre M y MN para los diferentes niveles de P (figura 4). Sin embargo, al comparar entre niveles de P, se encontró que en la medida que P en solución incrementó, la MSA fue significativamente menor (figura 4). El fósforo total absorbido tampoco presentó diferencias significativas respecto a la inoculación (M y NM) para los diferentes niveles de P (figura 4). No se encontró colonización micorrizal en *C. brasiliense*, ya que

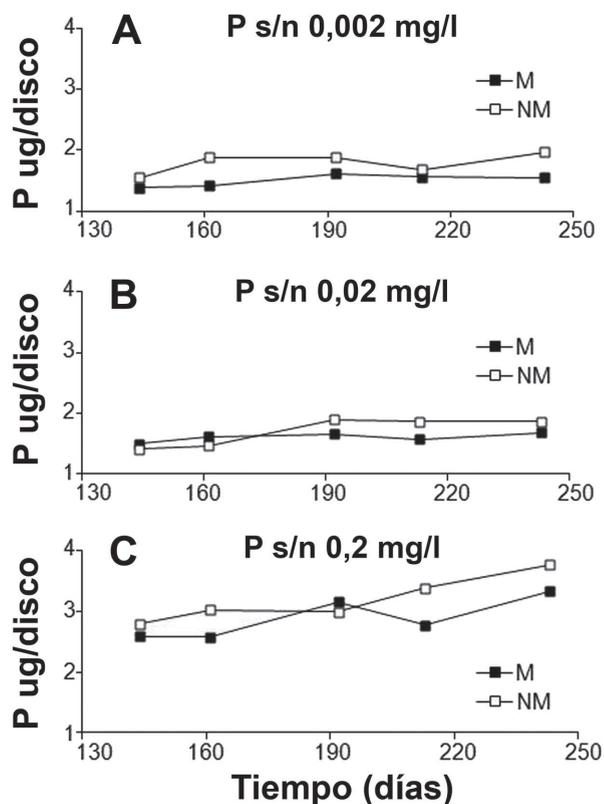


Figura 3. Contenido de fósforo (P) en los discos de hoja de barcino (*Calophyllum brasiliense* Cambers) en función de la concentración de P en la solución del suelo y la inoculación micorrizal. No se presentaron diferencias significativas [(LSD, $P \leq 0,05$) entre los promedios comparados; M = sustrato inoculado; NM = sustrato no inoculado]

no se detectaron estructuras de *G. aggregatum* en ninguno de los tratamientos evaluados. En cuanto a la dependencia micorrícica de barcino con *G. aggregatum* se obtuvo diferencias negativas aplicando la fórmula de Plenchete et al. (1983) lo cual da como resultado independencia micorrizal, por lo menos en cuanto a la especie micorrícica utilizada (tabla 1).

Tabla 1. Dependencia micorrícica de barcino (*Calophyllum brasiliense* Cambers) a 0,02 mg/l

	Masa seca aérea (g)		Diferencia	Dependencia micorrícica	
	no inoculado	con <i>G. aggregatum</i>		(%)	Categoría
Barcino	5,79	5,32	0,47	0	independiente

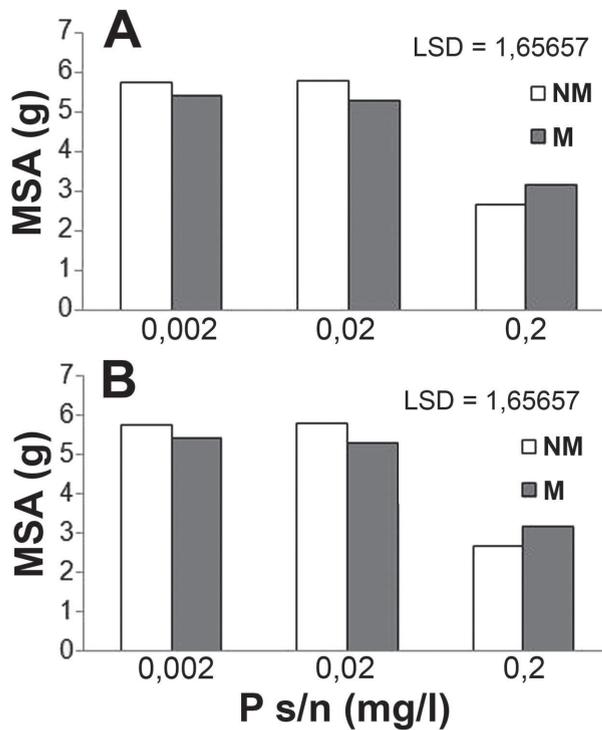


Figura 4. Masa seca aérea (MSA) de barcino (*Calophyllum brasiliense* Cambers) en función de la concentración de fósforo (P) en la solución del suelo y la inoculación micorrizal (A), y fósforo total absorbido (PTA) de barcino en función de la concentración de P en la solución del suelo y la inoculación micorrizal. La barra vertical denota el valor de la mínima diferencia significativa [LSD, $P \leq 0,05$] entre los promedios comparados; M = sustrato inoculado; NM = sustrato no inoculado]

Los resultados concuerdan con algunos estudios realizados en bosques húmedos tropicales, en donde las especies pioneras y secundarias iniciales están mayormente influenciadas por la simbiosis micorrizal que las especies secundarias tardías y las climáx (Siqueira y Saggin-Junior 2001, Zangaro et al. 2000, 2003), es de anotar, que barcino pertenece al grupo ecológico de las climáx (Kageyama y Viana 1989).

Los niveles bajo e intermedio de P disponible (0,002 y 0,02 mg l⁻¹) solo tuvieron ligeras variaciones sobre la MSA, lo que indica la gran adaptación de ésta especie a suelos con bajo contenido de P. Incluso, el sistema radicular varió con respecto al contenido de P, en el nivel más alto, las raíces se afectaron tanto en tamaño como en número y en vigor (figura 5).

Es explicable el crecimiento reducido en el nivel más alto, debido a que el hábitat en que crece *C. brasiliense*, siendo una especie de interior de bosque andino adaptada a suelos pobres en P; la cual en condiciones de P a un nivel superior al normal para la planta, pudo llevar a causar un efecto de toxicidad, afectando negativamente el crecimiento; además, la mayoría de las plantas toman el P inorgánico del suelo, ya sea

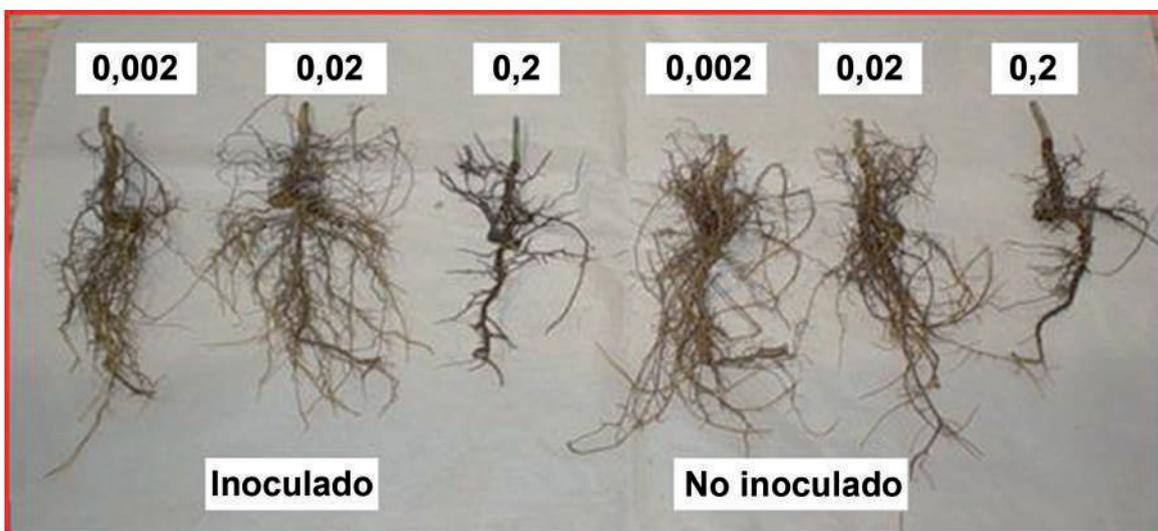


Figura 5. Raíces de barcino (*Calophyllum brasiliense* Cambers) procedentes de suelos inoculados (izquierda) y no inoculados (derecha) con tres concentraciones de fósforo (P) (0,002, 0,02, 0,2 mg l⁻¹)

una planta micorrizada o no micorrizada sin afectar la fracción orgánica (Bolan 1991), lo que permite inferir la saturación de P al nivel más alto (0,2 mg/l). Es bueno resaltar que, en general existe mayor incremento en el crecimiento vegetal cuando se adicionan a las plantas bajas dosis de P soluble, e incluso se manifiestan cambios cuando se aplica la misma cantidad de P soluble pero con diferente fuente de fertilizante (Bolan 1991).

En conclusión, no se presentó colonización micorrizal en ninguno de los tratamientos, ni dependencia micorrizal con *G. aggregatum* en barcino, lo cual ubica a esta especie dentro de la categoría independiente, al menos en las condiciones del estudio. No se sabe aún si *C. brasiliense* respondería de la misma forma con otras especies de HMA, o con inóculos multiespóricos.

La información aquí presentada, será de utilidad para todas las personas e instituciones interesadas en propagar masivamente a la especie *C. brasiliense*, ya que, define algunos aspectos de las relaciones simbióticas de la misma.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado gracias a la financiación y apoyo de la Dirección de Investigación y Desarrollo de la Universidad Católica de Oriente, en coordinación con la Unidad de Biotecnología Vegetal de la misma universidad. Además, se agradece muy especialmente a todos los integrantes del Grupo de Microbiología de Suelos de la Universidad Nacional Sede Medellín, quien con su apoyo permitieron llevar a feliz término la presente investigación.

REFERENCIAS

Aziz T, Habte M. 1987. Determining vesicular-arbuscular micorrizal effectiveness by monitoring P status of leaf disk. *Canadian Journal of Botany*, 33: 1097-1101.

- Barea JM, Azcón R, Azcón-Aguilar C. 2002. Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81: 343-351.
- Bolan NS. 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant and Soil*, 134: 189-293.
- Brundrett MC. 2002. Coevolution of root and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist*, 154: 275-304.
- Elsen A, Baimey H, Swennen R, De Waele D. 2003. Relative mycorrhizal dependency and mycorrhiza nemato de interaction in banana cultivars (*Musa* spp.) differing in nematode susceptibility. *Plant and Soil*, 256: 303-313.
- Fox R, Kamprath E. 1970. Phosphate sorption isotherms for evaluating the phosphate requirements of soils. *Soil Science Society of America Proceedings*, 34: 902-907.
- Giovannetti M, Mosse B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytologist*, 84: 489-500.
- González O, NW Osorio. 2008. Determinación de la dependencia micorrizal del lulo. *Acta Biológica Colombiana*, 13 (2): 163-174.
- Habte M, Fox R, Huang R. 1987. Determining vesicular arbuscular micorrizal effectiveness by monitoring P status of subleafflets of indicator plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 18: 1403-1420.
- Habte M, Manjunath A. 1991. Categories of vesicular arbuscular mycorrhizal dependency of host species. *Mycorrhiza*, 1: 3-12.
- Habte M, Osorio NW. 2001. *Arbuscular Mycorrhizas: Producing and applying Arbuscular Mycorrhizal Inoculum*. Honolulu: University of Hawaii. p. 47.
- Haselwandter K, Bowen GD. 1996. Mycorrhizal relations in trees for agroforestry and land rehabilitation. *Forest Ecology and Management*, 81: 1-17.
- Holdridge LR. 1979. *Ecología en zonas de vida*. San José (Costa Rica): Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas (IICA). Organización de Estados Americanos (OEA). p. 216.
- Jakobsen I, Abbott LK, Robson AD. 1992. External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. 2. Hyphal transport of ³²P over defined distances. *New Phytologist*, 120: 509-516.
- Johansen A, Jakobsen I, Jensen ES. 1993. External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. 3. Hyphal transport of ³²P and ¹⁵N. *New Phytologist*, 1993: 61-68.
- Jaramillo SP, Osorio NW. 2009. Mycorrhizal dependency of coffee seedling at different levels of soil solution phosphorus. *Revista Suelos Ecuatoriales*, 39 (1): 100-106.
- Jaramillo SP, Silva M, Osorio NW. 2004. Potencial simbiótico y efectividad de hongos micorrízico arbusculares de tres suelos sometidos a diferentes usos. *Revista de la Facultad Nacional de Agronomía Medellín*. 57 (1): 2203-2214.

- Kageyama P, Viana VM. 1989. Tecnología de semillas e grupos ecológicos de especies tropicales. Sao Paulo. Simpósio Brasileiro sobre Tecnología de Semillas Florestais.
- Kormanik PP, McGraw AC, Schultz RC. 1980. Procedure and equipment for staining a large number of plant samples for endomycorrhizal assay. Canadian Journal of Botany, 26: 536-538.
- Mansfeld-Giese K, Karsen J, Bodker L. 2002. Bacterial populations associated with mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intrarradices*. FEMS Microbiology Ecology, 41: 133-140.
- Montoya B, Osorio NW. 2009. Mycorrhizal dependency of avocado at different levels of soil solution phosphorus. Revista Suelos Ecuatoriales, 39 (2): 143-147.
- Murphy J, Riley JP. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. Analytica Chimica Acta, 27: 31-35.
- Osorio, NW, Díez MC, Sierra JA, Paternina L. 2008. Consideraciones ecológicas sobre la asociación micorrizal en suelos de la region altoandina. En: León JD, editor. Ecología de bosques andinos. Experiencias de investigación. Medellín (Colombia): La Carreta Editores. p. 181-200.
- Phillips JM, Hayman DS. 1970. Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society, 55: 158-161.
- Plenchette C, Fortin A, Furlan V. 1983. Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. Mycorrhizal dependency under field conditions. Plant and Soil, 70: 191-209.
- Sánchez M. 1999. Endomicorrizas en agroecosistemas colombianos. Palmira (Colombia): Universidad Nacional de Colombia, sede Palmira. p. 210
- Schubler A, Schwarzott D, Walker C. 2001. A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution. Mycological Research, 105: 1413-1421.
- Sierra JA, Castro D, Osorio NW. 2009. Dependencia micorrizal de laurel (*Ocotea* sp.) Revista Colombia Forestal, 12: 21-30.
- Sieverding E. 1991. Vesicular-Arbuscular mycorrhiza management. Eschbor (Hesse, Alemania): Editorial GTZ. p. 72.
- Silvia DM, Fuhrmann JJ, Hartel PG, Zuberer YD. 2005. Principles and applications of soil microbiology. 2nd ed. New Jersey (U. S. A.): Pearson Prentice Hall. p. 450.
- Siqueira JO, Saggin-Junior O. 2001. Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native woody species. Mycorrhiza, 11: 245-255.
- Uchida R, Hue NV. 2000. Plant nutrient management in Hawaii's soils, approaches for tropical and subtropical agriculture. Manoa (U. S. A.): College off Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa. p. 158.
- Vargas WG. 2002. Guía Ilustrada de las Plantas de las Montañas del Quindío y los Andes Centrales. Manizales (Colombia): Centro editorial, Universidad de Caldas. p. 814.
- Zangaro W, Bononi V, Trufen S. 2000. Mycorrhizal dependency, inoculum potential And habitat preference of native woody species in South Brazil. En: Journal of Tropical Ecology, 16: 603-622.
- Zangaro W, Nisizaki SMA, Domingos JCB, Nakano EM. 2003. Mycorrhizal response and sucesional status in 80 woody species from south Brazil. Journal of Tropical Ecology, 315-324.