


MORFOTIPOS DE HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES Y ENZIMA GLOMALINA EN UN HUERTO AGROECOLÓGICO

 <https://doi.org/10.22533/at.ed.988112512021>

Fecha de aceptación: 12/02/2025

Rosa María Arias Mota

Instituto de Ecología, A.C
<https://orcid.org/0000-0002-4703-5572>

Kenia Johanna Portillo Galicia

Facultad de Biología, Universidad Veracruzana
<https://orcid.org/0009-0000-5224-0602>

Yadeneiro de la Cruz Elizondo

Facultad de Biología, Universidad Veracruzana
<https://orcid.org/0000-0002-2034-6637>

RESUMEN: En los huertos, las micorrizas desempeñan un papel crucial para el establecimiento y equilibrio de los ecosistemas, además, contribuyen en el mantenimiento de la estabilidad de los agregados del suelo a través de la producción de la enzima glomalina. El objetivo de este estudio fue caracterizar la diversidad morfológica de esporas de HMA y las fracciones de glomalina en el Huerto Agroecológico Facultad de Biología UV, Xalapa. Para ello, se tomaron muestras de suelo de cinco áreas (cultivo, medicinales, milpa, pasillos y área educativa), se realizó el aislamiento e identificación de los morfotipos de HMA y se cuantificaron las fracciones de glomalina. Como resultados, se detectaron

cinco morfotipos, ubicados en tres géneros (*Glomus*, *Acaulospora* y *Gigaspora*); dos morfotipos de *Glomus*, dos de *Acaulospora* y uno de *Gigaspora*. El género *Glomus* fue el de mayor presencia en las cinco áreas del HAFBX. Los contenidos de glomalina total (GT) y fácilmente extraíble (GFE) fueron más altos en las camas de cultivo y se relacionaron significativamente con el número de esporas de HMA. Por otro lado, la baja conductividad eléctrica del suelo favoreció la producción de glomalina total (GT).

PALABRAS-CLAVE: micorrizas, glomalina total, glomalina fácilmente extraíble, huerto agroecológico, suelo.

INTRODUCCIÓN

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA), son asociaciones simbióticas que establecen algunas especies de hongos con las plantas (Guerra, 2008). Estos hongos actúan como extensiones del sistema radical y aumentan la asimilación de nutrientes del suelo, principalmente fósforo, debido a que las hifas les permiten explorar un mayor volumen del ambiente edáfico (Smith y Read, 1997). El efecto de la micorrizas se

puede observar en la planta hospedera, al incrementarse su reproducción, supervivencia y la producción de su biomasa (Van der Heijden *et al.*, 1998). En los HMA, las hifas actúan de manera mecánica en la unión de partículas del suelo por la presencia de polisacáridos extracelulares llamados glomalina; la cual es una proteína que participa en la estabilidad de los agregados del suelo y actúa como reservorio de carbono (C) y N (Six *et al.*, 2004). Tanto la presencia de los HMA como la producción de glomalina puede utilizarse como un indicador biológico de la calidad del suelo, cambios de C y de la estabilidad de los agregados del suelo (Rillig *et al.*, 2003). En este estudio se realizó una caracterización morfológica de las esporas HMA presentes en las camas de cultivo del Huerto Agroecológico de la Facultad de Biología así como una evaluación cuantitativa de las fracciones de glomalina total y fácilmente extraíble. Además, se analizó la relación del número de esporas con la producción de glomalina y con las características fisicoquímicas del suelo.

MARCO TEÓRICO

Huerto agroecológico

Los huertos educativos con enfoque agroecológico son espacios de aprendizaje de saberes ambientales y donde los estudiantes de educación superior pueden realizar investigación en áreas urbanas sobre aspectos productivos y funcionales (Eugenio, 2021; Fontalvo *et al.*, 2023). Particularmente el Huerto Agroecológico de la Facultad de Biología de la Universidad Veracruzana ha trabajado desde hace más de diez años en la promoción de la educación ambiental y la investigación agroecológica (De la Cruz *et al.*, 2018; De la Cruz y Fontalvo, 2019). En este espacio, los estudiantes de distintas asignaturas realizan algunas de sus prácticas escolares en esta aula laboratorio que aporta un escenario propicio para el aprendizaje de técnica de campo o laboratorio, descripción de grupos taxonómicos y aportando datos sobre los grupos funcionales que sustentan los agroecosistemas urbanos.

Hongos micorrízicos arbusculares

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son organismos microscópicos que pertenecen al Phylum Glomeromycota (Redecker *et al.*, 2013), existen 345 especies descritas (Shuessler, 2023). Los HMA son biotrofos obligados; es decir, requieren de la planta para completar su ciclo de vida (Smith y Read, 2010).

Esta asociación se encuentra en todos los ecosistemas terrestres, y se estima que el 72% de las plantas tienen micorrizas arbusculares; el 2.0% tiene ectomicorrizas, 1.5% son micorrizas ericoides y el 10% son orquidioides. Exclusivamente el 8% de las plantas no son micorrizadas, mientras que el 7% tiene asociaciones inconsistentes (Brundrett y Tederso, 2018).

Los HMA proporcionan agua y nutrientes minerales que no están disponibles en el suelo, como el fósforo, estos nutrientes los toman por medio del micelio extraradical y a través de las partículas del suelo (Carrillo *et al.*, 2022). Debido a su alta tasa metabólica, los HMA, capturan, almacenan y controlan el flujo de nutrientes como el fósforo, nitrógeno, potasio, calcio, zinc, cobre y molibdeno. Estos se mueven desde suelo a la planta huésped; a cambio, reciben una variedad de carbohidratos (Baum *et al.*, 2015). Este aporte de nutrientes a las plantas por parte de los HMA influye indirectamente en su tolerancia a diversos factores de estrés abióticos y bióticos (Harris *et al.*, 2009) (Figura 1).

En los ecosistemas naturales, las micorrizas desempeñan un papel esencial que beneficia a muchas plantas y cultivos; ya que contribuyen al establecimiento y protección de plantas en suelos poco productivos, afectados por la desertificación, la contaminación por metales pesados, la salinización y además brindan protección de organismos patógenos (Albornoz y Catania, 2021). Los HMA contribuyen a la estabilidad de los aglomerados debido a que secretan una proteína relacionada con la glomalina (proteína del suelo asociada a la glomalina) que se une a las partículas minerales y previene la erosión del suelo (Rillig, 2004).

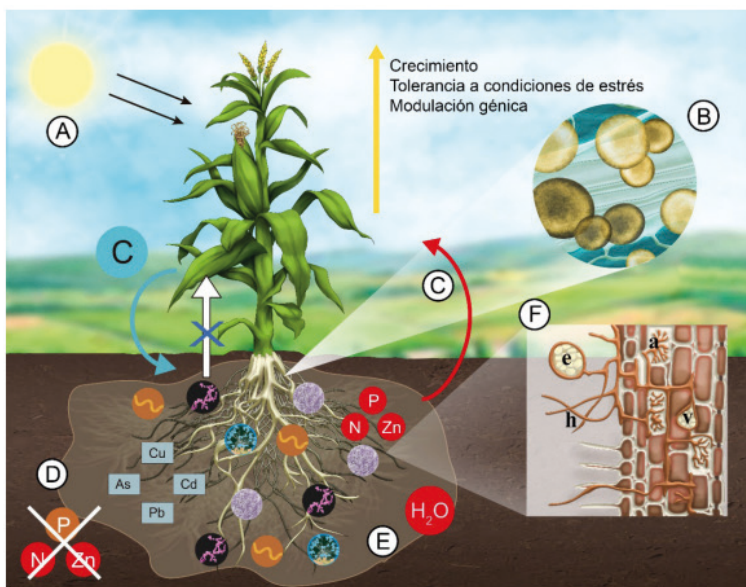


Figura 1. Micorrizas arbusculares y su papel en la nutrición de las plantas. A. Las plantas sintetizan carbono (C), una parte de este es transferido en forma de carbohidratos al hongo (flecha azul); B. El micelio coloniza la raíz (F), comienza a crecer y aumenta la superficie de absorción de nutrientes de la planta; C. A cambio, el hongo micorrízico arbuscular (HMA) aporta agua y nutrientes como fósforo (P), nitrógeno (N) y zinc (Zn) (flecha roja); D. Los nutrientes pueden estar fuera del alcance de la raíz (elementos tachados); E. Esta asociación en conjunto con el microbioma tiene una función bioacumuladora de metales (cuadros grises), además de transportar agua; F. Estructuras características de los HMA distinguibles en un corte longitudinal de raíz: espora=e, vesícula=v, arbusculo=a, hifas=h. Ilustración de Gustavo Armando Rodríguez Sánchez (Tomado: Carrillo-Saucedo *et al.*, 2022).

Glomalina

La glomalina es una glicoproteína producida principalmente por hongos micorrícicos arbusculares (HMA). Wright y Upadhyaya (1996) a través de prueba inmunológica mostraron que la glomalina forma parte de la pared celular de las hifas de los HMA, también en las partículas del suelo. Es una proteína insoluble en su estado natural y puede tener propiedades hidrofóbicas; esta enzima favorece la agregación, esto es al permitir la penetración de aire y por lo tanto influye en un drenaje eficiente, además tiene la particularidad de recubrir el agregado y proteger el material mineral (Wright y Upadhyaya, 1998). La glomalina está específicamente relacionada con el metabolismo de los HMA, se le reconoce como una proteína cementante de las partículas de suelo que forma conglomerados con fragmentos de raíces y materia orgánica. Puede ser considerada un indicador de calidad del suelo, debido a su papel en la agregación de partículas del suelo, se cree que reduce significativamente la degradación de la materia orgánica al proteger los compuestos lábiles dentro de los agregados del suelo, mejorando así el secuestro de carbono en los ecosistemas del suelo (Reyna, 2015; Schindler *et al.*, 2007).

Para evaluar la glomalina se cuantifica como proteína del suelo relacionada a glomalina (GRSP) y se pueden evaluar en dos fracciones: la glomalina total (GT) y la glomalina fácilmente extraíble (GFE). La GT representa la máxima cantidad que puede ser extraída y está fuertemente unida a las partículas de suelo. Mientras que la GFE es el pool de más reciente deposición e incluso se ha sugerido que proviene de una descomposición parcial de la glomalina más estable (GT) (Rodríguez *et al.*, 2020). Esta proteína se produce durante la colonización de las raíces y la ramificación del micelio de HMA al explorar el suelo, y es incorporada directamente al suelo mediante la descomposición y transformación de los propágulos fúngicos (Singh *et al.*, 2013).

La glicoproteína es aparentemente recalcitrante pudiendo durar en los suelos de 7 a 42 años según las condiciones, el ecosistema y el manejo agrícola de los suelos, es insoluble en agua y en soluciones salinas comúnmente usadas en extracciones de compuestos del suelo (Wright y Upadhyaya, 1998). La producción glomalina se ve restringida en suelos con alto contenido de fósforo y donde se utilizan métodos convencionales agrícolas como la aplicación de agroquímicos. Estos factores tienen un impacto negativo sobre la formación y funcionalidad de los HMA y por lo tanto de la producción de glomalina (Ryan y Graham, 2002).

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área

El Huerto Agroecológico de la Facultad de Biología UV, campus Xalapa (HAFBX) se localiza dentro de la Facultad de Biología, en la Zona Universitaria Xalapa, Veracruz. El clima en la zona es templado húmedo, presenta una temperatura máxima de 34.5°C y una mínima de 5°C. La altitud es de 1365 msnm, presentando una precipitación pluvial media anual de 1436 mm. Es un aula-laboratorio con un área de 303 m², que cuenta con diversas áreas de trabajo, estas son: banco de semillas, almacigos, compostero, área educativa, área productiva (camas de cultivo), área de plantas medicinales y aromáticas. Su diseño y manejo es agroecológico, por lo que se implementan una serie de buenas prácticas como el uso de semillas nativas, abonado orgánico, acolchado natural del suelo, labranza reducida, riego inteligente, rotación y asociación de cultivos, barreras y cercas vivas, manejo agroecológico de plagas y enfermedades (Fontalvo y De la Cruz, 2021). Tiene diez años de haber iniciado actividades académicas ya que antes era un espacio donde se acumulaba material de desecho de las construcciones de la Facultad por lo que la recuperación de las funciones edáficas son necesarias. Dentro del huerto, se consideraron 5 áreas de estudio dividida por camas de cultivo. En la figura 2 se pueden observar las diferentes camas y la composición de cada una de ellas.



Figura 2. Áreas del HAFBX. A) vista general del huerto, B) camas de cultivo, C) milpa, D) área educativa, E) pasillos y F) camas medicinales.

Cada una de las áreas de interés en este trabajo, cuenta con una composición de plantas diversas, entre las que se destacan las hortalizas, aromáticas y medicinales, así mismo, el agroecosistema cuenta con vegetación nativa, árboles frutales, hortalizas, arvenses, plantas alimenticias no convencionales y ornamentales (Tabla 1).

Muestreo y procesamiento de las muestras

En cada una de las áreas del huerto se tomó una muestra de suelo rizosférico de 250 gr, a una profundidad de 0-15 cm. Se tomaron 5 muestras mixtas de cada una de las áreas (Figura 3 A). El suelo se depositó en bolsas plásticas previamente etiquetadas, para posteriormente dejar secar a temperatura ambiente. Las muestras de suelo se molieron y tamizaron para almacenarlas en bolsas plásticas etiquetadas hasta su procesamiento.

Área	Descripción
Camas de cultivo	Cúrcuma (<i>Curcuma longa</i> L.), cebollín (<i>Allium schoenoprasum</i> L.), lechuga (<i>Lactuca sativa</i> L.) trocadero, tropical y morada, frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.), chaya (<i>Cnidocolus aconitifolius</i> Mill.), jicama (<i>Pachyrhizus erosus</i> L.), capuchina (<i>Tropaeolum majus</i> L.), caléndula (<i>Calendula officinalis</i> L.), maracuyá (<i>Passiflora edulis</i> Sims.), acuyo (<i>Piper auritum</i> Kunth.) y hierbabuena (<i>Mentha spicata</i> L.).
Camas de medicinales y aromáticas	Orégano orejón (<i>Coleus amboinicus</i> Lour.), albahaca (<i>Ocimum basilicum</i> L.), hierba buena (<i>Mentha spicata</i> L.), estafiate (<i>Artemisia ludoviciana</i> Nutt.), lavanda (<i>Lavanda augustifolia</i> Mill.), romero (<i>Salvia rosmarinus</i> Spenn.), ruda (<i>Ruta graveolens</i> L.), agastache (<i>Agastache mexicana</i> Kunth.), hierba dulce (<i>Phyla scaberrima</i> Juss.ex Pers. Moldenke) y falsa citronela (<i>Pelargonium citrosum</i> L'Her).
Milpa	Maíz (<i>Zea mays</i> L.), frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.), calabaza (<i>Cucurbita</i> sp.), cempasúchil (<i>Tagetes erecta</i> L.) e hinojo (<i>Foeniculum vulgare</i> P. Mill.).
Pasillos	Pastos (<i>Bromus</i> sp.) y plantas arvenses.
Área educativa	Pastos (<i>Bromus</i> sp.) y plantas arvenses.

Tabla 1. Composición de plantas en cada área del HAFBX.

Extracción y conteo del número de esporas de los HMA

Se utilizó el método de tamizado húmedo y decantación (Gerderman y Nicolson, 1963). Para esto, se colocaron 50g de suelo rizosférico en un vaso de precipitado con 1 L de agua; la muestra se agitó durante 10 minutos. Posteriormente se dejó reposar por 10-15 minutos. El sobrenadante obtenido se pasó a través de una serie de tamices Tyler de 750, 250, 150 y 50 μm de apertura. El sobrenadante del último tamiz se colocó en tubos falcón y se aforó a 50 mL para posteriormente centrifugar la muestra a 2500 rpm durante 5 minutos (Centrífuga Thermo Ice Centra CL2). Seguido de esto, las muestras centrifugadas se decantaron y se les agregó una solución de sacarosa al 70%. Después de agitar la muestra vigorosamente, se centrifugó nuevamente a 2500 rpm durante 1 min. El sobrenadante se pasó nuevamente sobre el tamiz de 50 μm , lavándose con agua corriente. El conteo de las esporas se realizó en caja cuadrículada bajo el microscopio estereoscópico (Carl Zeiss) y con microscopio óptico (Leica® DM500). La densidad de esporas de los HMA se expresó como el número promedio de esporas/50 g de suelo rizosférico por cada tamiz.

Identificación de morfotipos de esporas de hongos micorrícicos arbusculares

Una vez cuantificadas las esporas extraídas para cada muestra, se colocaron en un vidrio reloj para su observación en lupa estereoscopia con la ayuda de una micropipeta, se reunieron los morfotipos de acuerdo con la similitud en forma, color y tamaño de las esporas y se almacenaron a 4°C hasta su análisis morfométrico. Para la identificación de los morfotipos de esporas, se montaron las muestras en portaobjetos con alcohol polivinílico, ácido láctico glicerol (PVLG) y reactivo de Melzer. La identificación de los morfotipos de las esporas de HMA se realizó considerando el color, tamaño, forma, características de la pared (grosor, color y presencia de ornamentaciones, entre otras) según nomenclatura de la colección Internacional de hongos formadores de micorrizas vesículo arbusculares (Brundrett *et al.*, 1996).

Extracción y medición de glomalina fácilmente extraíble y total

Para la extracción de la proteína glomalina fácilmente extraíble (GFE) se siguió la metodología de Wright y Upadhyaya (1998). Se pesó 1g de suelo rizosférico y se colocaron en tubos de ensayo; se añadieron 8mL de citrato de sodio (20 mM pH 7) y se colocaron en la autoclave durante 30 minutos a 121°C. Se dejaron enfriar y se centrifugaron (Centrífuga Thermo Ice Centra CL2) a 3000 rpm por 15 minutos. Se colectaron los sobrenadantes y se midió el volumen.

Por otro lado, la extracción de glomalina total (GT), consistió en ciclos sucesivos en autoclave (121°C) por 60 minutos, usando buffer de citrato 50 mM a pH 8.0 hasta que el sobrenadante no presentara color. Los sobrenadantes colectados por muestra se unieron y se midió el volumen (Figura 3 B). Posteriormente, para determinar la GT y la GTE se realizó una evaluación de la concentración de proteínas en los sobrenadantes por el método de Bradford (1976). La lectura de absorbancia del complejo proteína azul de coomassie brillante G-250 se realizó a 595 nm en un espectrofotómetro (Thermo UV Vis GENESYS). Se preparó una curva patrón de albúmina de suero bovino a partir de una solución de 1 gL⁻¹ utilizando seis concentraciones de esta solución entre 0.05-0.5 gL⁻¹. Las concentraciones de glomalina se expresaron en mg/kg de suelo seco.

Análisis fisicoquímicos

Los análisis de suelo se realizaron en los laboratorios de la Facultad de Biología-Xalapa. La textura del suelo se midió por medio del método del hidrómetro (Figura 3 C). El porcentaje de la materia orgánica se determinó a través del contenido de carbono orgánico. Para la evaluación del pH se utilizó un medidor de pH de vidrio-electrodo en una relación de suelo 1:2 (NOM-021-RECNAT, 2002). La determinación del fósforo extraíble se realizó a través del método de Bray y Kurtz (1945) (Figura 3 D). Por último, la conductividad se evaluó a través del método AS-18 (NOM-021-RECNAT, 2002).

Análisis estadístico de datos

Los valores de las fracciones de glomalina y datos fisicoquímicos del suelo fueron sometidos a un análisis de varianza de una vía (ANOVA); cuando las diferencias fueron significativas se realizaron pruebas de comparación de medias (Tukey HSD) en el software Statistica 12. Para relacionar el contenido de glomalina con el número de esporas, así como las características fisicoquímicas del suelo con las variables antes mencionadas, se realizaron pruebas de regresión lineal (Wayne, 2010).

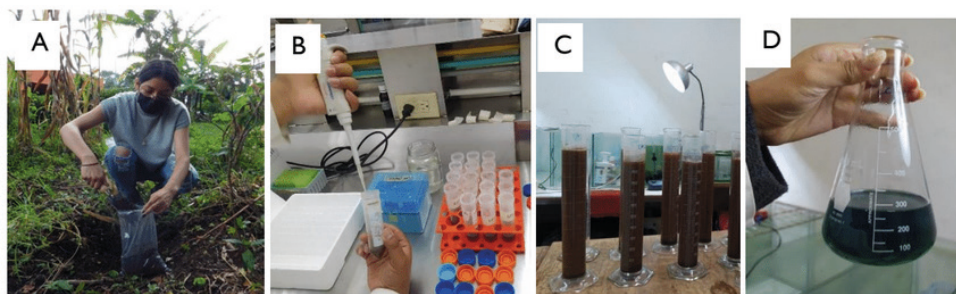


Figura 3. Procesamiento de las muestras A) Toma de muestra de suelo, B) Medición de glomalina, C) Análisis de la textura del suelo) y D) Medición de fósforo del suelo.

RESULTADOS

Morfotipos de esporas de HMA

Para este estudio, se identificaron y clasificaron cinco morfotipos o tipos de esporas con morfología diferente. Los cinco morfotipos se ubicaron en los géneros: *Glomus*, *Acaulospora* y *Gigaspora*. En la figura 4, se muestran los diferentes morfotipos observados bajo el microscopio compuesto.

El primer morfotipo fue identificado como *Glomus* sp.1, este presenta un color marrón- rojizo brillante, con paredes gruesas. El rango de diámetro de la espora es de 227-294 μm . El segundo morfotipo fue clasificado como *Glomus* sp. 2, presenta un color amarillo marrón brillante, de paredes delgadas. La espora mide de 149-245 μm de diámetro. El tercer morfotipo se ubicó en el género *Acaulospora* sp.1. Este morfotipo presenta un color amarillo-marrón y se visualizan dos capas en la pared. Las esporas miden de 169-314 μm de diámetro. Se observa el tubo germinativo. El cuarto morfotipo se determinó dentro del género *Acaulospora* sp. 2 posiblemente *A. scrobiculata*. Esporas de forma globosa, con tres capas visibles en la pared, pared ornamentada. De color amarillo pálido y diámetros de 160-210 μm . El quinto morfotipo corresponde a una espora tipo *Gigaspora* sp. 1, las cuales se caracterizan por tener un color amarillo brillante y paredes lisas. Este morfotipo de espora tiene un rango de diámetro de 255-374 μm .

Abundancia de morfotipos de esporas de HMA

Respecto a la abundancia de las esporas, el mayor número de morfotipos de esporas de HMA se detectó en la cama de cultivo (21), seguido de pasillos (16), área educativa (15), milpa (14) y finalmente el área de medicinales (11). El morfotipo de HMA más abundante en el Huerto Agroecológico fue el morfotipo *Glomus* sp. 1 y el de menor abundancia fue el morfotipo de *Gigaspora* sp. 1. En el área de cultivo, pasillo y área educativa, el morfotipo dominante fue *Glomus* sp. 2. En la cama de medicinales, fue el morfotipo *Glomus* sp. 1. y en la milpa fue el morfotipo *Acaulospora* sp. 1. Los morfotipos del género *Glomus* (1 y 2) estuvieron presentes en todas las áreas, sin embargo, el morfotipo de *Gigaspora* solo estuvo en los pasillos y la milpa (Tabla 3).

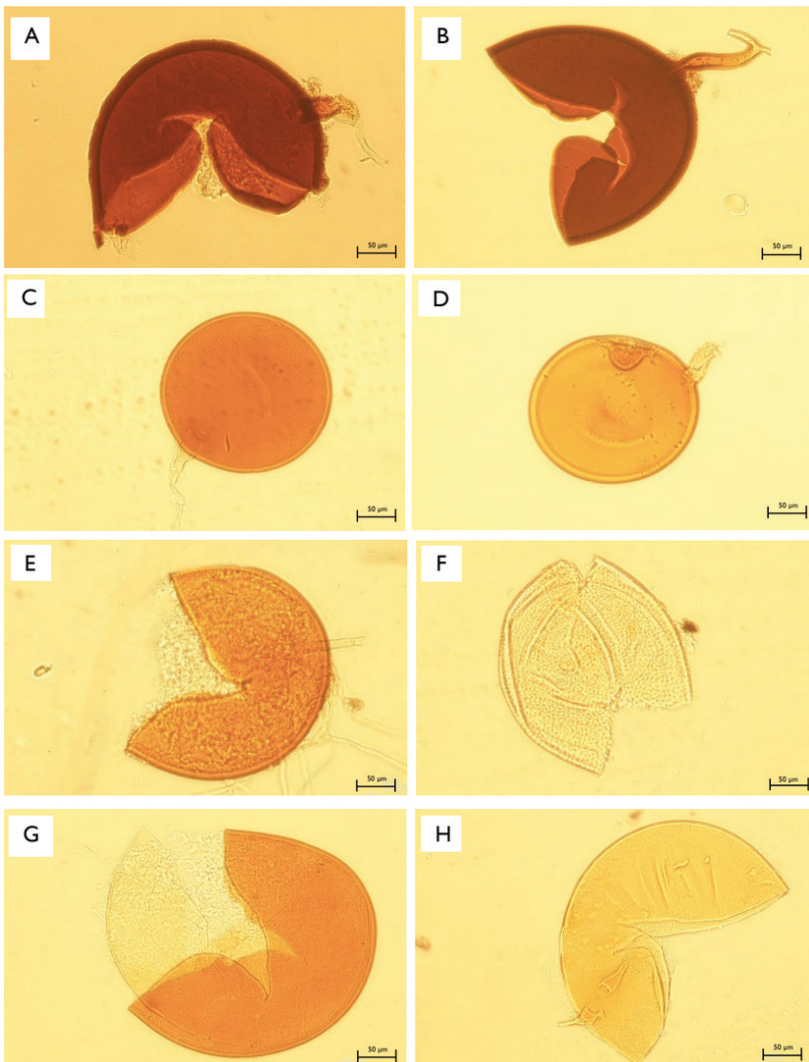


Figura 4. Morfotipos de esporas en las áreas del HAFBX: A) y B) *Glomus* sp.1, C) y D) *Glomus* sp.2, E) *Acaulospora* sp.1, F) *Acaulospora* sp.2 aff *scrobiculata*, G Y H) *Gigaspora* sp1.

Morfotipos	Camas de cultivo	Medicinales	Pasillos	Área educativa	Milpa	Total
<i>Glomus</i> sp.1	6	5	4	1	3	19
<i>Glomus</i> sp.2	11	3	6	8	3	31
<i>Acaulospora</i> sp.1	4	2	0	6	5	17
<i>Acaulospora</i> sp.2 <i>aff scrobiculata</i>	0	1	3	0	2	6
<i>Gigaspora</i> sp.1	0	0	3	0	1	4
Total	21	11	16	15	14	77

Tabla 2. Abundancia de esporas HMA/50 gr de suelo rizosférico de las áreas estudiadas del HAFBX.

Glomalina fácilmente extraíble y total

En este estudio, los valores de glomalina fácilmente extraíble (GFE) oscilaron entre 0.02 a 0.17 mg/kg, las diferencias entre las áreas del HAFBX analizadas resultaron significativas ($F=95.75$, $p= <0.05$). El mayor contenido de GFE se registró en el área de camas de cultivo ($t>0.05$), seguido por el área educativa (0.071mg/kg) y camas medicinales (0.03 mg/kg). El área de milpa y pasillos presentaron valores muy similares entre sí, siendo estas dos, las áreas con menor contenido de la glicoproteína GFE (Figura 5).

En cuanto al contenido de glomalina total (GT), los valores fueron más altos que la GFE, estos variaron en el rango de 0.24 a 0.66 mg/kg de suelo. En este caso, el área de camas de cultivo presentó valores significativamente mayores ($GT= 0.66$ mg/kg, $p= <0.05$) que el resto de las áreas del HAFBX. Por otra parte, el área de pasillos presentó un valor alto (0.50 mg/kg) a comparación de las tres áreas restantes. El área de milpa, medicinales y área educativa mostraron valores inferiores, no existiendo diferencias significativas entre estas (Figura 5).

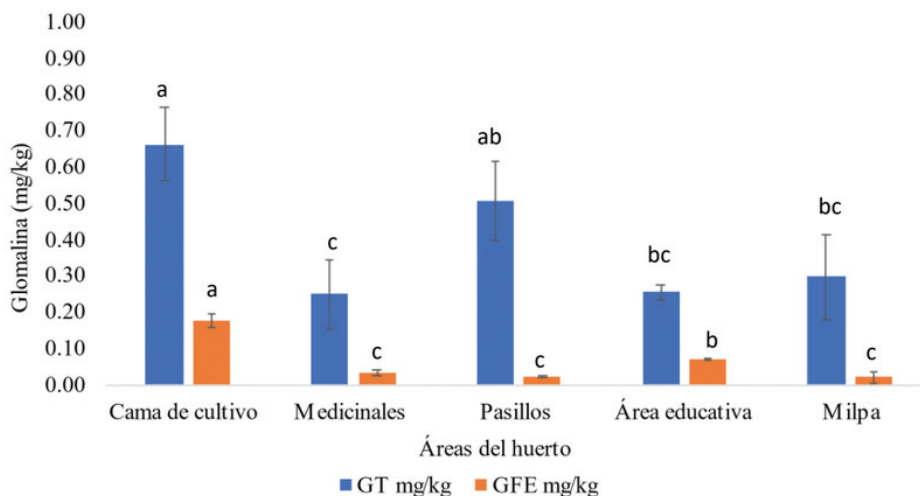


Figura 5. Valores de glomalina total (GT) y fácilmente extraíble (GFE) en las áreas del HAFBX. Letras idénticas en las columnas del mismo color indican que no existen diferencias significativas entre las áreas $p<0.05$. Los datos corresponden al promedio de tres repeticiones.

Características fisicoquímicas del suelo

La textura del suelo en las cinco áreas evaluadas fue catalogada de acuerdo con la NOM-021 como franco arcilloso (Cr). Respecto a los resultados de la arena, arcilla y limo; no se detectaron diferencias significativas de sus porcentajes entre las áreas evaluadas ($p > 0.01$). Los porcentajes de arena oscilaron en un rango de 42.10 a 50.49 %, la arcilla entre 25.75 a 35.80 % y el limo de 20.18 a 23.76%. La materia orgánica fue clasificada como alta y muy alta según la NOM-021. Los valores oscilaron en un rango de 13.14 a 16.87 %, siendo el área de camas de cultivo la que presentó el mayor porcentaje de MO (16.87%). Los valores carbono orgánico (CO)%, oscilaron en un rango de 7.63 a 9.787%. Así mismo, en el área de camas de cultivo (9.78%) y medicinales (9.16%), se registraron porcentajes significativamente mayores al resto de las áreas. El área de milpa registró el porcentaje más bajo (7.63 %). De manera general, el pH mantiene valores de 6.07 a 6.86 y es catalogado como moderadamente ácido con gran tendencia a la neutralidad (NOM-021). El área educativa presentó un pH de 6.07, siendo la única que se clasifica en moderadamente ácido según la NOM-021. El área de camas de cultivo presentó el valor más alto de P (0.80 mg/kg¹), seguido por el área de medicinales (0.61 mg/kg¹). En cambio, el área de milpa registró el valor más bajo de P extraíble (0.55 mg/kg). Por último, en cuanto a la conductividad eléctrica (CE), se registraron diferencias significativas ($F = 186.80$, $p = 0$) entre las áreas evaluadas. El rango CE fue de 0.07 a 0.15dS m⁻¹. Con base en la NOM-021, el suelo analizado se clasifica dentro de efectos despreciables de la salinidad (Tabla 4).

Característica fisicoquímica	Camas de cultivo	medicinales	Pasillos	Área educativo	Milpa
Textura	Franco arcillosa	Franco arcillosa	Franco arcillosa	Franco arcillosa	Franco arcillosa
Arena (%)	45.34±6.5a	42.44±9.5a	43.10±6.2a	42.01±4.4a	50.49±2.7a
Arcilla (%)	34.46±6.4a	35.80±6.9a	34.89±6.4a	35.80±4.4a	25.74±2.3a
Limo (%)	20.18±1.0a	21.76±2.7a	22.00±0.7a	22.18±1.5a	23.76±0.4a
Materia orgánica (MO) %	16.87±0a	15.80±1.3a	13.42±0.9a	14.82±2.2a	13.14±0.7b
C orgánico %	9.78±0a	15.80±1.3a	13.42±0.9a	14.82±2.2a	13.14±0.7b
pH 1: 2 H ₂ O	6.84±0a	6.82±0a	6.77±0.1a	6.07±0b	6.86±0a
P Disp. mg/kg	0.80±0a	0.61±0.2a	0.55±0.1a	0.60±0a	0.55±0.1a
Conductividad dS m ⁻¹	0.07±0c	0.15±0a	0.05±0c	0.15±0a	0.13±0b

Tabla 3. Propiedades fisicoquímicas del suelo de las áreas estudiadas

Los datos son el promedio de 3 repeticiones ± desviación estándar. Las letras idénticas entre las filas indican que no existen diferencias significativas entre las áreas $p < 0.05$.

Relación entre las variables

Con respecto a las regresiones lineales entre las variables; se detectaron algunas relaciones significativas, las cuales se mencionan a continuación y se pueden observar en la figura 6. El número de esporas se relacionó significativamente y de manera positiva con la glomalina total (89%, $p=0.03$) (Figura 6A) y con la glomalina fácilmente extraíble (83%, $p=0.05$) (Figura 5B). La glomalina total se relacionó significativamente de manera negativa (-91%) con la conductividad eléctrica del suelo (Figura 6C). Se detectaron algunas tendencias importantes como, por ejemplo, el número de esporas se relacionó -71% y de manera negativa con la conductividad eléctrica del suelo. La glomalina fácilmente extraíble se relacionó -80% con el limo y un 80% con la materia orgánica del suelo. No obstante, estas relaciones no fueron significativas ($p>0.05$).

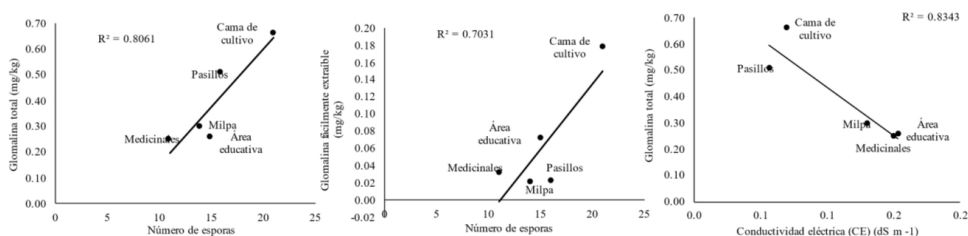


Figura 6. Regresiones lineales significativas. A y B) Relación entre el contenido de glomalina (GFE y GT) con el número de esporas de HMA y C) contenido de glomalina total con la conductividad eléctrica del suelo de las áreas del HAFBX.

DISCUSIÓN

En este estudio, se detectaron cinco morfotipos, ubicados en tres géneros (*Glomus*, *Acaulospora* y *Gigaspora*); dos morfotipos de *Glomus*, dos de *Acaulospora* y uno de *Gigaspora*. Las especies del *Glomus* son ampliamente adaptables a las variadas condiciones del suelo y sobreviven tanto en suelos ácidos como alcalinos, son generalistas y suelen ser dominantes en áreas perturbadas de diversos ambientes (Cervantes *et al.*, 2021). El género *Acaulospora* se encuentra con frecuencia en suelos con pH entre 3.8 y 8.0 (Morton 1986; Abbott y Robson, 1991) y *Gigaspora* se asocia a suelos con contenidos de arena. Cabe mencionar que el género *Glomus* fue el de mayor presencia en las cinco áreas del HAFBX, las especies de este género tienden a adaptarse a casi cualquier tipo de suelo y condiciones edafoclimáticas, además de que pueden establecer relaciones simbióticas con un amplio número de especies de plantas (Bonfin *et al.*, 2013).

En cuanto a la abundancia, si bien fue baja, es importante resaltar la presencia de estos organismos funcionales en este espacio que anteriormente fue un terreno que se utilizaba como vertedero de basura y escombro. Otro dato interesante es que la baja densidad de esporas no siempre se relaciona con la ausencia de HMA en el suelo, debido a que estos hongos pueden estar presentes como micelio extraradical o bien colonizando

las raíces de las plantas. Cabe señalar que la producción de esporas depende de diversos factores espaciales y estacionales (Rodríguez *et al.*, 2020). Debido a lo anterior, es importante realizar muestreos en diferentes épocas del año, a diferentes profundidades, así como cuantificar el micelio extraradical y la colonización micorrícica de las plantas que conforman las diferentes áreas del huerto, con el fin de obtener más información sobre este grupo de organismos funcionales del suelo.

Las diferentes formas de evaluar la presencia de HMA (esporas, longitud de raíces, colonización, micelio activo) tienen limitaciones, por lo que se ha sugerido el uso de la medición de la glomalina como un indicador biológico de la calidad del suelo, ya que su descomposición es lenta y es sensible a las fluctuaciones ambientales (Rillig *et al.*, 2001; Fokom *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2015). La información sobre el contenido de glomalina en huertos urbanos es limitada, Wang *et al.* (2020) mencionan valores de 0.56 mg/kg de glomalina total en suelos urbanos, por lo que los valores de glomalina total (GT) en este estudio son superiores (0.24 a 0.66 mg/kg). En otros estudios en suelos de cultivo de trigo, maíz y girasol reportan valores de glomalina total de 0.32-0.71 mg/kg. Los valores de glomalina para el suelo de este huerto urbano es bajo comparado con los reportados para pastizales (0.62-2.5), bosques templados (5.8 mg/kg) y selva (13.5 mg/kg), no obstante, son superiores a los referenciados para suelos del desierto (0.003-0.13 mg/kg). Treseder y Turner (2007) señalan que tanto las condiciones del suelo como la disponibilidad de nutrientes, el agua, los agregados del suelo y su tipo de manejo, así como las condiciones ambientales influyen directamente en la producción primaria neta y en la abundancia de los HMA en cada uno de los biomas y por ende de los contenidos de glomalina; además es importante señalar que el suelo del huerto está en recuperación de disturbios antropogénicos que sufrió hace algunos años.

En regresiones, se observó una correspondencia significativa entre el número de esporas y el contenido de las fracciones de glomalina (GT y GFE). En las áreas donde se cuantificó el mayor número de esporas, los niveles de glomalina fueron mayores. Esto coincide con lo señalado por Seguel *et al.*, 2008; Báez *et al.*, 2010; Morell *et al.*, 2006. Quienes mencionan, que las condiciones de un suelo y el manejo de este influyen directamente sobre los HMA y las concentraciones de glomalina. Del mismo modo, los cultivos establecidos favorecen un aporte regular de residuos de orgánicos al sistema y proporcionan una cobertura vegetal permanente en el suelo. Esto favorece la conservación de la humedad, la actividad biológica y debería incrementar la proliferación de HMA y la producción de glomalina. Sin embargo, otros estudios (Lozano, 2015; Šarapatka *et al.*, 2019) señalan que las tasas de producción de glomalina no se correlacionan con la abundancia de HMA en el suelo.

La variación del contenido de glomalina entre las áreas puede ser debido a la presencia o ausencia de los diferentes morfotipos de los géneros de los HMA en las camas, ya que la producción de glomalina varía dependiendo del grupo taxonómico del que se trate (Singh, 2013). Diversos estudios demuestran que diferentes especies de HMA producen diferentes cantidades de glomalina. *Acaulospora morrowiae*, *Glomus luteum*, *Glomus verruculosum*, *Glomus versiforme* produjeron una cantidad significativa de glomalina (Wright *et al.*, 1996). Hallazgos similares fueron informados por Wright y Upadhyaya (1999). Estudió *Acaulospora morrowiae*, *Gigaspora rosea*, *Glomus etunicatum* y *Glomus intraradices* (Lovelock *et al.*, 2004).

Producen una mayor cantidad de glomalina. Las existencias de glomalina a menudo son mayores donde las plantas hospedantes de los HMA son más abundantes o son hospedantes más efectivos para los hongos (lo que implica que se asigna más C a los hongos). Dado que los HMA producen glomalina, la presencia de ésta puede verse influenciadas indirectamente por factores que controlan el crecimiento de los HMA. De manera general, los HMA son más abundantes donde la longitud de las raíces finas y la disponibilidad de plantas hospedantes son mayores, como el caso de pastos y cebollas (Treseder, 2007). Esta afinidad puede explicar la presencia de los HMA y el contenido de glomalina en el suelo de los pasillos del HAFBX, donde predominan los pastos.

En esta investigación, la condición del suelo influyó en los cambios en la glomalina total. En el caso de la conductividad eléctrica del suelo del huerto se clasificó como “efectos despreciables” (bajas concentraciones de sales), posiblemente derivado del tipo de manejo que recibe y que no se utilizan insumos agrícolas de síntesis química como plaguicidas o fertilizante. Los resultados revelaron que una baja conductividad eléctrica favorece altos contenidos de glomalina total, ya que la presencia de las sales afecta la asimilación de nutrientes por las plantas y la actividad microbiana del suelo (FAO, 2023).

A pesar de no ser significativas la relación de la glomalina fácilmente extraíble con la materia orgánica y el carbono total del suelo se relacionaron en un 80%. Se conoce que la glomalina total representa la máxima cantidad de esta proteína que puede ser extraída y que está fuertemente unida a las partículas de suelo, por lo que requiere más tiempo de extracción a altas temperaturas (ciclos múltiples), mientras que la fracción fácilmente extraíble es el pool de más reciente deposición por lo que se ratifica que la glomalina es un componente importante de la materia orgánica del suelo extremadamente resistente a su degradación (Wright y Upadhyaya, 1998); resultados similares fueron expuestos por Reyna (2015), Seguel *et al.*, (2008), Hossain (2021), Schindler *et al.*, (2007). La cuantificación de esta proteína en el suelo podría revelar historias del manejo reciente, en el caso de la GFE, mientras que la GT podría indicar la acumulación de C por más tiempo (Arias *et al.*, 2022). Es importante destacar que la glomalina se puede utilizar para cuantificar la actividad de los HMA en suelos urbanos, suelos de huertos familiares o de traspatio, ya que puede funcionar como un indicador biológico del suelo, además representa una técnica rápida para la detección de actividad de los HMA y por lo tanto sugiere la presencia de este grupo de microorganismos funcionales.

Por otra parte, se ha reportado que la textura del suelo influye en los niveles de glomalina. Reyna (2015) encontraron correlaciones positivas entre glomalina y contenido de arcillas y limo. La textura es una propiedad importante ya que influye en como factor de fertilidad y en la habilidad de retener agua, aireación, drenaje, contenido de materia orgánica y otras propiedades (FAO, 2023). En este trabajo, la glomalina fácilmente extraíble se relacionó de forma negativa con el limo. Bajo este contexto, se puede argumentar que los suelos con poco limo son más arcillosos y poseen mayor contenido de materia orgánica lo cual favorece una buena producción de glomalina. Wang *et. al.*, (2020) y Suárez *et. al.*, (2022) señalan que la urbanización afecta indirectamente los niveles de glomalina a través de alteraciones del suelo, por ejemplo, cambio de uso de suelo, crecimiento urbano etc. Resulta importante señalar un poco de la historia del Huerto Agroecológico; este espacio se encuentra en recuperación, dado que anteriormente era un espacio utilizado para arrojar diferentes residuos de construcción y con poca o nula cubierta vegetal. A partir del 2012 y con el establecimiento oficial del Huerto Agroecológico se le dio un manejo agroecológico (abonado con compostas, remoción del suelo) y se establecieron diversas plantas (rotación y asociación de cultivos). En este sentido, es importante mencionar la evolución de las características fisicoquímicas de este suelo. A partir de un estudio previo del suelo del Huerto Agroecológico (De la Cruz y Fontalvo, 2019), se evaluaron algunas propiedades fisicoquímicas (textura (franco arenosa), agregados (condición moderada), pH (6.58), materia orgánica (6.45%)); comparado con lo reportado en este trabajo, se evidencia un aumento y mejora en algunas propiedades como la textura, materia orgánica y Ph.

A partir de este estudio, en el que se denota la presencia de los HMA y contenidos de glomalina, se recomienda fomentar el establecimiento de huertos urbanos, que promuevan la presencia de plantas que propicien el abastecimiento permanente de fotosintatos a los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) estrechamente relacionados con la producción de glomalina (González-Chávez *et al.*, 2004).

CONCLUSIONES

Los resultados expuestos en este primer trabajo exploratorio sobre HMA del Huerto Agroecológico de la Facultad de Biología avalan que el suelo de este tipo de agroecosistemas urbanos ofrece características fisicoquímicas óptimas que promueven la presencia de microorganismos funcionales como los hongos micorrícicos arbusculares, así como la producción de fracciones de glomalina. Por lo que es muy importante promover el establecimiento y mantenimiento de huertos agroecológicos en escuelas o traspatios que favorecen la presencia de organismos benéficos y promover la producción de alimentos sanos.

REFERENCIAS

- Abbott, L.K. y Robson, A.D. (1991). Factors influencing the emergence of vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 35: 121-150. DOI: 10.1016/0167-88099190048-3.
- Albornoz, P., y Catania M. (2021). Relación entre hongos y raíces de plantas (Micorrizas). *Universo Tucumano*, 75: 3-14.
- Arias R., De la Cruz Y. y Rodríguez Y. (2022). Caracterización de proteínas del suelo relacionadas con las fracciones de glomalina en cafetales bajo sombra en Veracruz. *Alianzas y Tendencias*, 7(26): 42-58. DOI:10.5281/zenodo.6662469.
- Báez-Pérez, A., González-Chávez, M.C.Á., Etchevers-Barra, J.D., Prat, C. e Hidalgo-Moreno, C. (2010). Glomalina y secuestro de carbono en tepetates cultivados. *Agrociencia*, 44 (5): 517-529.
- Bonfim, J.A., Vasconcellos, R.L.F., Stürmer, S.L., y Cardoso, E.J.B.N. (2013). Arbuscular mycorrhizal fungi in the Brazilian Atlantic forest: A gradient of environmental restoration. *Applied Soil Ecology*, 71: 7-14.
- Bradford, M.M. (1976). Rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein using the protein-dye binding principle. *Analytical biochemistry*, 7(72): 248-54. DOI: 10.1006/abio.1976.9999.
- Bray, R. y Kurtz, L. (1945). Determination of total organic and available forms of phosphorus in soils. *Soil Science*, 59: 39-45. DOI: 10.1097/00010694-194501000-00006.
- Brundrett, M. C., y Tedersoo, L. (2018). Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytologist*, 220(4), 1108-1115.
- Brundrett, M.C., Abbott, L.K., y Jasper, D.A. (1999). Glomalean fungi from tropical Australia. Comparison of the effectiveness of isolation procedures. *Mycorrhizae*, 8: 305-314.
- Carrillo-Saucedo, S.M., Puente-Rivera, J., Montes-Recinas, S., y Cruz-Ortega, R. (2022). Las micorrizas como una herramienta para la restauración ecológica. *Acta botánica mexicana*, (129).
- De la Cruz Elizondo, Y., Fontalvo Buelvas, J.C. y Valdivia Romero, N.J. 2018. La huerta ecológica de la Facultad de Biología, un escenario de enseñanza y aprendizaje sin fronteras. *Journal CIM*. Vol 6 Num 1. ISSN 2007- 8102
- De la Cruz Elizondo, Y., y Fontalvo Buelvas, J.C. 2019. Evaluación de a Calidad del suelo en un huerto urbano de Xalapa, México. *Revista Suelos Ecuatoriales*. 49 (1 y 2): 29-37
- De la Cruz- Elizondo, Y. y Fontalvo-Buelvas, J.C. (2019). Evaluación de la calidad del suelo de un huerto urbano en Xalapa, México. *Suelos Ecuatoriales*, 49(1): 29-37.
- Eugenio-Gonzalbo, M., Ramos Truchero, G. y Suárez López, R. 2021. University gardens for sustainable citizenship: assesing the impact of garden-based learning on environmental and food education at Spanish higher education. *International Journal of Sustainability in Higher Education*. Vol 22 No. 3, pp 516-534
- FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2023). El manejo de suelos afectados por salinidad. Consultado en: Suelos afectados por salinidad | Portal de Suelos de la FAO | Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Fontalvo Buelvas, J.C., M. Eugenio Gonzalbo, Y. de la Cruz Elizondo y M. M. Escalona. 2023. Evaluating university gardens as innovative practice in education for sustainability: A latinamerican case of study. *Sustainability (MDPI)* 15: 3975

Fontalvo-Buelvas J.C., y De la Cruz-Elizondo Y. (2021). Huertos universitarios y necesidades humanas: una aproximación bibliográfica y vivencial desde el huerto agroecológico del Universidad Veracruzana en México. *La Colmena*, (14): 29-46. DOI: 10.18800/lacolmena.202101.002

Gerdemann, J.W. y Nicolson, T.H. (1963). Spore of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of British Mycological Society*, 46: 234-44.

González-Chávez, M.C.A., Gutiérrez-Castorena, M.C., y Wright, S. (2004). Hongos micorrízicos arbusculares en la agregación del suelo y su estabilidad. *Terra Latinoamericana*, 22(4), 507-514.

Guerra B. (2008). Micorriza arbuscular. Recurso microbiológico en la agricultura sostenible. *Tecnología en Marcha*, 21(1):191-201.

Hossain, M. B. (2021). Glomalin and contribution of glomalin to carbon sequestration in soil: a review. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 9(1), 191-196.

INVAM. (2009). International culture collection of arbuscular and vesicular mycorrhizal fungi. Species descriptions from reference culture, names and authorities of fungi in Glomales. Inicio I INVAM (ku.edu)

Lozano E. (2015). Sensibilidad de la glomalina a los efectos provocados por el fuego en el suelo y su relación con la repelencia al agua en suelos forestales mediterráneos. [Tesis doctoral en Universidad Miguel Hernández de Elche]. Alicante, España.

Lovelock, C.E., Wright, S.F., Clark, D. A., y Ruess, R.W. (2004). Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungi across a tropical rain forest landscape. *Journal of Ecology*, 278-287.

Morell, F., Hernández, A., Fernández, F. y Toledo, Y. (2006). Caracterización agrobiológica de los suelos ferralíticos rojos lixiviados de la región de san José de las Lajas, en relación con el cambio en el manejo agrícola. *Cultivos Tropicales*, 27(4): 13-18.

Morton, J.B. (1986) Three New Species of *Acaulospora* (Endogonaceae) from High Aluminum, low pH soils in west Virginia. *Mycology*, 78(4): 641-648. DOI: 10.1080/00275514.1986.12025300.

NOM-021-REC/NAT-2000 (NORMA Oficial Mexicana). (2002). Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México, D.F.

Reyna, L.D. (2015). Estudio de la fracción de proteínas relacionadas a la Glomalina como indicador de calidad de suelos. [Tesis doctoral en Universidad Nacional de Quilmes]. Departamento de Ciencia y Tecnología. Bernal, Argentina.

Rillig, M.C, Wright, S. F, Kimball, B. A, Pinter, P.J, Wall, G.W, Ottman, M.J. y Leavitt, S.W. (2001). Elevated carbon dioxide and irrigation effects on water stable aggregates in a sorghum field: A possible role for arbuscular mycorrhizal fungi. *Global Change Biology*, 7: 333-337. DOI:10.1046/j.1365- 2486.2001.00404.x.

Rillig, M.C., Maestre, F.T. y Lamit, L.J. (2003). Microsite differences in fungal hyphal length, glomalin, and soil aggregate stability in semiarid Mediterranean steppes. *Soil Biology Biochemistry*, 35:1257-1260. DOI:10.1016/S0038-0717(03)00185- 8.

Rodríguez-Yon, Y., Chiriboga-Morocho, R., Concha-Egas, T.G., y de León-Lima, D.P. (2020). Caracterización de las fracciones de glomalina en suelos Ferralíticos Rojos con diferente uso. *Cultivos Tropicales*, 41(4).

Ryan, M.G. y Graham, J.H. (2002). Is there a role for arbuscular mycorrhizal fungi in production agriculture. *Plant and Soil*, 244: 263-271.

- Šarapatka, B., Alvarado-Solano, D. P., & Čížmár, D. (2019). Can glomalin content be used as an indicator for erosion damage to soil and related changes in organic matter characteristics and nutrients? *Catena*, 181, 104078.
- Schindler, F., Mercer, E. y Rice, J. (2007). Chemical characteristics of glomalin-related soil protein (GRSP) extracted from soils of varying organic matter content. *Soil Biology and Biochemistry*, 39 (1): 320-329.
- Schübler, A. y Walker, C. (2010). *The Glomeromycota: A Species List with New Families and New Genera*. 56 pp.
- Seguel, A., Rubio, R., Carrillo, R., Espinosa, A., y Borie, F. (2008). Niveles de glomalina y su relación con características químicas y biológicas del suelo (andisol) en un relicto de bosque nativo del sur de Chile. *Bosque (Valdivia)*, 29 (1): 11-22.
- Singh, P. K., Singh, M., & Tripathi, B. N. (2013). Glomalin: an arbuscular mycorrhizal fungal soil protein. *Protoplasma*, 250, 663-669.
- Six, J., Bossuyt, H., Degryze, S. y Deneff, K. (2004). A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota and soil organic matter dynamics. *Soil Tillage Res*, 79:7-31. DOI: 10.1016/j.still.2004.03.008.
- Smith, S. E. y D. J. Read. (1997). *Mycorrhizal symbiosis*, (2a Ed). California Academic Press. London.
- Suárez, M., Herbón, C., Barral, M. y Paradelo, R. (2022). Evaluación del contenido de glomalina y su relación con la agregación en suelos urbanos. *Revista de Ciencias Agrarias*, 45(4): 622-626. DOI:10.19084/rca.28743.
- Treseder, K. y Turner, K. (2007). Glomalin in Ecosystems. *Soil Science Society of America Journal*, 71(4): 1257-1266. DOI:10.2136/sssaj2006.0377.
- Van der Heijden, M., Klironomos, J. y Ursic, M. (1998). Mycorrhizal fungal diversity shapes plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396: 69–72. DOI: 10.1038/23932.
- Wang, Q., Wang, W., Zhou, Z., Wang, H., y Fu, Y. (2020). Variation in glomalin in soil profiles and its association with climatic conditions, shelterbelt characteristics, and soil properties in poplar shelterbelts of Northeast China. *Journal of Forestry Research* 31: 279–290. DOI:10.1007/s11676-019-00909-w.
- Wang, S., Wu, Q. y He, X. (2015). Exogenous easily extractable glomalin-related soil protein promotes soil aggregation, relevant soil enzyme activities and plant growth in trifoliolate orange. *Plant Soil Environ*, 61 (2): 66–7.
- Wayne, D. (2010). *Biostatistics: a foundation for analysis in the health sciences*. (4th ed). Ed Mc Graw Hill.
- Wright S.F, Upadhyaya A. 1999. Quantification of arbuscular mycorrhizal activity by the glomalin concentration on hyphae. *Mycorrhiza*, 8: 283-285.
- Wright, S. y Upadhyaya, A. (1998) A Survey of Soils for Aggregate Stability and Glomalin, a Glycoprotein Produced by Hyphae of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Plant and Soil*, 198, 97-107.
- Wright, S.F., Franke-Snyder, M., Morton, J.B., y Upadhyaya, A. (1996). Time-course study and partial characterization of a protein on hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi during active colonization of roots. *Plant and soil*, 181, 193-203.