

CULTIVO Y APLICACIÓN DE MICORRIZAS PARA PRODUCCIÓN HORTICOLA EN LA RIOJA

MICORRIZAS.ELCOLLETERO.ORG



Equipo de Innovación
Micorrizas*





CULTIVO Y APLICACIÓN DE MICORRIZAS PARA PRODUCCIÓN HORTICOLA EN LA RIOJA

MICORRIZAS.ELCOLLETERO.ORG



Equipo de Innovación
Micorrizas*





Equipo de Innovación
Micorrizas*



Equipo de innovación, presentación del proyecto, Ateneo riojano, Logroño 02/05/2018

El equipo de Innovación “Micorrizas” está coordinado por la Asociación “El Colletero” y dirigido por Javier Sáenz de Cabezón, cuenta con el agricultor Gabriel Fabón (Tomateco) y la empresa de asesoría agrícola AgroVIDAR. El desarrollo del cultivo de micorrizas está a cargo de la empresa Clean-Biotec, que presta su servicio como consultoría externa. El diseño gráfico y la comunicación del proyecto ha sido desarrollado por Carlos Ramírez (Lobete diseño).

El Colletero

Asociación para el empleo y el desarrollo rural en igualdad de Nalda y su entorno.

Agrovidar

Soluciones Agroambientales que ofrece soluciones integrales en agricultura y medio ambiente

Tomateco

Agricultores de tomates y hortalizas ecológicos de calidad con sede en el Valle del Iregua.

CleanBiotec

Empresa dedicada a la biotecnología ambiental para la mejora de cultivos agrícolas.

CULTIVO Y APLICACIÓN DE MICORRIZAS PARA PRODUCCIÓN HORTICOLA EN LA RIOJA

PUBLICACIÓN DE DIVULGACIÓN CIENTÍFICA

Con esta publicación queremos acercar a técnicos, agricultores y al público en general tanto los beneficios del uso de micorrizas como su cultivo. Y así contribuir a la reducción del impacto de la agricultura sobre nuestros suelos.

Promotor y Editor:

Asociación El Colleteo
CIF: G26301416
C/piscinas s/nº
26190 Nalda (La Rioja)
www.micorrizas.elcolletero.org

Dirección: Javier Sáenz de Cabezón

Equipo de redacción y grupo de trabajo:

Javier Sáenz de Cabezón
Mª Angélica García Álvaro
Gabriel Fabón Ancherlergues
Gonzalo Villalba Eguren
Nieves Goicoechea Preboste
Baldomero Sáenz Laya
José Manuel Fernández Laiño
Belen Balmaseda Rico
Ana Isabel Fernández Rico
Fabiola Pérez Moracia
Matilde Ballesteros Ramos
Raquel Ramírez García
Carlos Ramírez de la Concepción
Lourdes Cacho Escudero
Florencia Escudero Fonseca
Benita Escudero Valdemoros

Diseño de cubierta e interior: Carlos Ramírez (Lobete Diseño)

Producción gráfica: Imprenta Vidal

ISBN:987-98-09-12349-9

Deposito legal: LR 297-2021

Impreso en España - Printed in Spain



Índice

Prólogo: Pablo Alonso Tafalla	11
Introducción: El proyecto, Javier Sáenz de Cabezón	15
Cap 1. Las micorrizas vesículo arbusculares	18
Su historia	19
Funciones	21
Nutrición (Biofertilizantes)	21
Suelo (Bioingenieras)	21
Otras funciones	23
Cap 2. Cultivo y observación de hongos micorrícicos	24
Introducción: Mª Angélica García Álvaro	25
Cómo encontrar micorrizas (MVA)	28
Cómo iniciar el cultivo de MVA	28
Técnicas básicas de tinción y visualización de MVA	29
Protocolos y cultivo	30
Cap 3. Las endomicorrizas y Agricultura Ecológica	32
Los objetivos de la Agricultura ecológica en la UE	33
Hongos de MVA en los sistemas agrícolas	34
Manejo de los Agroecosistemas	35
Cap 4. Aplicación de MVA en campo	42
Cultivos experimentados	43
Diseño del campo experimental	44
Resultados: Tomate, lechuga, guisante, berenjena, haba, puerro, pimiento de padrón y espinaca	45
Cap 5. Las micorrizas en un contexto de cambio climático	54
Introducción: Nieves Goicoechea Preboste	55
Las Micorrizas y secuestro de Carbono	57
Diseño del experimento: Sistema de Cultivo, toma de muestras, comprobación de micorrización, recuento y resultados	58
Cap 6. Innovación Social	62
Introducción	63
El Colleteo, Agrovidar y Tomateco	65
Cap 7. Conclusiones	75
Referencias Bibliográficas	77



Muestra de tierra

Prólogo

Pablo Alonso Tafalla

Jefe de Servicio de Registros Agrarios

Tengo que confesar que la primera vez que escuché a Angélica hablar sobre las micorrizas, trasladándonos a la Pandora de Avatar sentí cierta inquietud, me imaginé viviendo en un mundo totalmente diferente al que conocía, curiosa jugada del destino. En estos años he querido ver algunas similitudes entre estos seres y el proyecto cuyos resultados se presentan.

La idea de este proyecto estaba en las mentes de los miembros del equipo de innovación, de igual manera que las micorrizas existen naturalmente en el terreno, esperando su momento para desarrollarse.

En la búsqueda de los hongos se realizó un trabajo de prospección, evaluación y replicación. Una tarea de promoción y coordinación se llevó a cabo por El Colletero para buscar, reunir e implicar a los mejores socios que se habría podido encontrar. Se muestrearon praderas, montes y huertas para encontrar las micorrizas más satisfactorias y se buscó entre investigadores, agricultores y divulgadores para configurar un equipo equilibrado.

Los hongos se desarrollan cuando las condiciones ambientales son idóneas. El Programa de Desarrollo Rural de la Consejería de Agricultura brindó las condiciones adecuadas para que el proyecto pudiese fructificar. El equipo supo aprovecharlas, afrontó el reto con valentía y no desfalleció ante las dificultades.

Estos seres aguardan en el suelo a que se den las mejores condiciones y buscan los mejores huéspedes para establecer simbiosis, El Colletero actuó de inóculo, reunió en torno a una idea a un grupo de personas entusiastas, con ganas y capacidad de trabajo; como si fueran Micorrizas Vesículo Arbusculares. El equipo de innovación ha trabajado para sacar el máximo provecho de los recursos disponibles, incrementando la capacidad de asimilación de los “nutrientes” proporcionados.

Fomentando las sinergias, con el avance del proyecto, las “hifas” han ido apareciendo en cada reunión, cada vez más sólidas y más funcionales. Logrando conjugar los intereses de cada uno de los componentes, y contribuyendo a los objetivos generales de este reto.

Esta etapa de mi trabajo en la administración me ha regalado la posibilidad de conocer gente fantástica, con grandes ideas e ilusión por buscar otras maneras de trabajar. He aprendido muchas cosas de cada uno de los grupos operativos y los equipos de innovación. El Colletero, Agrovidar, Clean-Biotec y Tomateco me han enseñado a perseguir los objetivos, modificando la ruta y adaptándose a los imprevistos, haciendo gala de esa resiliencia tan de moda, logrando que ni el maldito virus frene el desarrollo del proyecto, y mucho menos borre la sonrisa de las caras y el entusiasmo de todas (debe ser femenino con permiso de la RAE) las que trabajáis en el proyecto.

Sirva este proyecto para empoderar a las micorrizas, por ende, empoderar a las mujeres que trabajan codo con codo y en igualdad con los hombres. Compartiendo el trabajo y el éxito. Haciendo del pueblo un lugar atractivo para el desarrollo personal y profesional de todos sus habitantes. El desarrollo de cada persona es el germen de una sociedad madura que solo podrá avanzar cuando mejoren las condiciones de vida de cada sujeto.

A las miradas superficiales o poco atentas el planteamiento de este trabajo puede parecerles baladí, el análisis detallado y atento develará un soporte científico-técnico serio, profesional y riguroso. El

equipo de innovación ha demostrado una admirable capacidad para tratar cuestiones complejas de manera sencilla. Me ha agradado ver cómo a las convocatorias de las diferentes jornadas que se han organizado, han concurrido pequeños agricultores junto a académicos. Se ha creado un ambiente de cooperación y un entorno de trabajo muy agradable, en el que cada uno ha aportado sin complejos, con ganas de compartir y de aprender.

El equipo de innovación ha conseguido conjugar los intereses de unos y otros, la brecha entre el técnico y el agricultor se ha reducido al fin. Tanto en las jornadas, notas divulgativas y sobre todo en la página web, se ofrece una información organizada en diferentes capas para que cada persona pueda avanzar según su nivel de interés en cada una de las partes, retando a dar un paso más y seguir aprendiendo.

El proyecto no puede ser más riojano, las empresas y el personal lo son, así como el terreno donde se desarrolla y los cultivos ensayados. Una comunidad pequeña pero grande en capital humano, capaz de que la calidad de los proyectos haga mantener la fe en que no solo las grandes empresas y administraciones pueden hacer trabajos de innovación interesantes. Cada uno de los participantes ha aprovechado los diferentes foros para dar a conocer su trabajo, presentándolo en eventos locales, nacionales e incluso internacionales.

La innovación. Europa apuesta por la innovación.

Nuevas y mejoradas formas de trabajar. Otra manera de conseguir lo mismo, pero con mejores resultados. Las micorrizas están ahí, solo tenemos que invitarles a que trabajen para nosotros, simple pero no sencillo.

Los miembros de este equipo de innovación llevan toda su carrera planteando nuevas formas de entender la agricultura, y por extensión el mundo o la vida. Llevan tanto tiempo innovando que a veces se olvidan de que lo están haciendo. Entendiendo la esencia de la innovación; sin complicadas o estridentes soluciones tecnológicas difícilmente asimilables por el pequeño agricultor. La tecnología usada de manera óptima y puesta al servicio del proyecto y a la búsqueda de soluciones, nunca un fin en sí mismo.

Vivimos en un mundo loco que avanza a velocidad vertiginosa. Un simple año puede dar un vuelco a nuestra forma de vida y hábitos. Quizá ahora más que nunca lo innovador sea volver la vista atrás. Aprovechar lo que hemos aprendido en estos meses para recuperar nuestra vida anterior, potenciada y mejorada. Disfrutar comiendo los productos tradicionales de la huerta cuyo sabor y calidad se ha reforzado con el trabajo de los últimos años. El proyecto contribuye a una producción de calidad organoléptica y nutritiva que hace las delicias de los compradores y es orgullo de los productores.

Estoy seguro de que todos los componentes de este equipo continuarán en su trayectoria innovadora y les auguro un futuro lleno de retos interesantes, algunos con éxito y buenos resultados, otros no tanto, pero sacando lo mejor de cada uno de ellos.

Os estaré siguiendo, no me defraudéis.

Gracias al equipo de innovación micorrizas por permitirme conocerlos con detalle y hacerme partícipe de vuestras alegrías, inquietudes, avances y preocupaciones. Realmente lamento no haberlos podido acompañar tan estrechamente al final de esta acción. Os pido disculpas por las licencias (y seguro que algún error) que me he permitido en este prólogo para contar cómo he vivido el proyecto como si de una colonización se tratase.

Ahora confieso. ¡Quiero ser una micorriza! Ojalá la sociedad fuera capaz de trabajar y vivir como micorrizas. Establecer unos nexos de unión que nos sirvan para comunicarnos de manera eficaz, mejorando nuestra capacidad de supervivencia, las condiciones de vida de nuestra especie y del resto del planeta; intercambiando información útil para hacer de este lugar un sitio mejor donde vivir de manera más eficiente y respetuosa con el medioambiente.

Introducción al Proyecto

Francisco Javier Sáenz de Cabezón Irigaray

*Coordinador Equipo de Innovación "Micorrizas"
para la Lucha Contra el Cambio Climático*

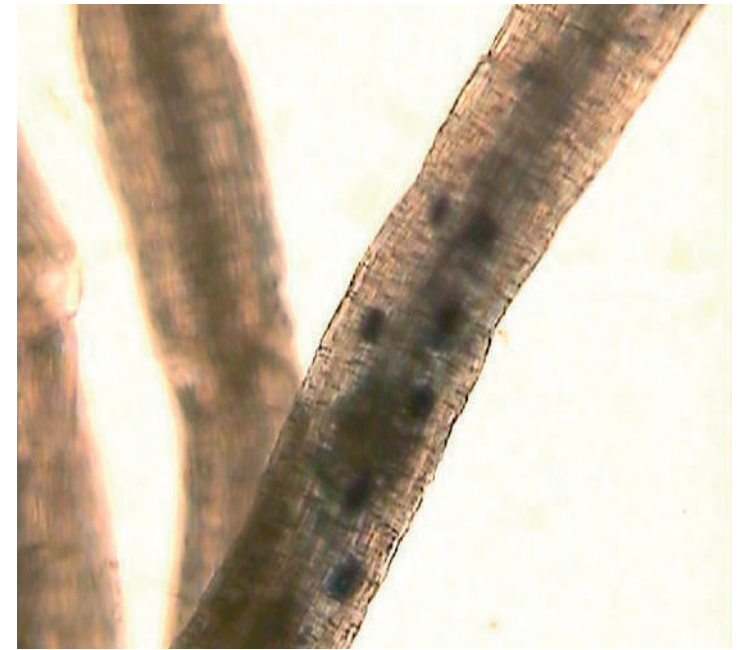
Con esta publicación pretendemos dar a conocer a la sociedad un grupo de hongos que han estado, podríamos decir ocultos, y no sólo por su naturaleza, sino porque no existe un vínculo real entre la investigación y la sociedad, los descubrimientos de la investigación deben ser transferidos. La investigación debe tener como finalidad la sociedad y la sociedad debe apoyar la investigación, pero si estos dos actores no se encuentran, es difícil que se comuniquen. Este proyecto, ha intentado conciliar esta relación, mostrar al público en general lo necesarias que son las endomicorrizas para nuestra vida, nuestra alimentación, nuestro suelo, basados en la transferencia de conocimiento a partir de estudios científicos.

El que escribe este texto, ha podido conocer de primera mano las virtudes de estos hongos micorrícicos, que hay que conservarlos porque nos mantienen con vida, y es así, si no fuera por esta maravilla de la naturaleza, les aseguro que no existiría la vida como la conocemos, de hecho, yo no estaría escribiendo ahora mismo. Los hongos, y algo más importante, la simbiosis que realizan ya sea con algas (líquenes)

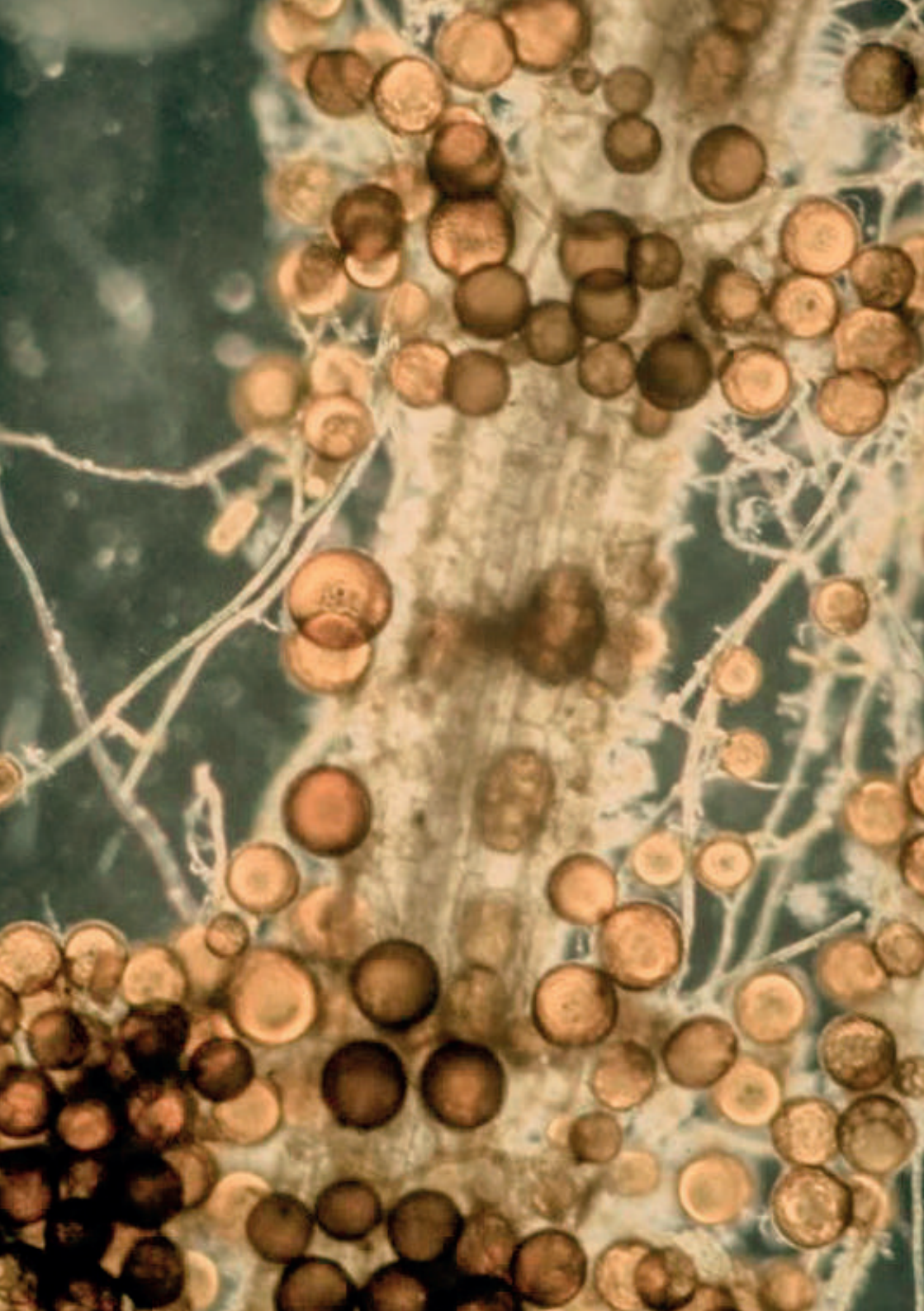
o con plantas (micorrizas), han creado las condiciones para trasladar la vida del agua a la tierra. Las micorrizas llevan en este planeta, más de 400 millones de años, y me parece una falta de respeto, que las estemos eliminando consciente o inconscientemente, destruyendo bosques, destrozando el suelo, matándolas con productos químicos..., pero siguen ahí, prestando sus habilidades al planeta TIERRA, que es donde vivimos, es nuestra casa.

El objetivo principal del proyecto es un objetivo común en todo el planeta, la lucha contra el cambio climático y, por ende, la conservación y regeneración del suelo. Sin el suelo no somos nadie ni nada, el suelo sostiene nuestra vida, cobija gran multitud de organismos de varios reinos animales y vegetales, dentro del suelo, bajo el cielo, se dan multitud de procesos clave para el sostenimiento del planeta, y se necesitarían varios libros para enumerar y explicar cada uno de ellos.

Para esta tarea escogimos los hongos micorrícicos vesículo arbusculares, que realizan simbiosis con la raíz de casi todas las plantas vasculares e incluso con árboles y muestran dos características muy interesantes: son bioingenieros y biofertilizantes, lo que explicaremos más adelante en el texto. Así pues, los buscamos, los encontramos, los cultivamos y cómo no, replicamos en campo lo que ya se sabía por la ciencia, pero que había que enseñar, transferir al público en general, Innovación Social, que lo llaman. También sabíamos, que, si algo no es útil al ser humano, o no parece útil, o no sabe que es útil, no le interesa, y nos vimos, como equipo, forzadas a mostrar la utilidad de esta “herramienta” nueva para el ser humano, que ya existía en tiempos de los Berones y los Pelendones. Hemos hecho campos demostrativos, hemos ido a ferias, a congresos, a colegios, hemos hecho jornadas, traído a científicas para que nos expliquen las bondades de las endomicorrizas y sus estudios, incluso hasta cómo las estudian. Hemos disfrutado con las endomicorrizas arbusculares, y esperamos que la sociedad y no sólo La Riojana, a quien va dedicada este proyecto, se beneficie, conozca y proteja el suelo y a sus habitantes.



Esporas vesículas de endomicorrizas maíz



Capítulo 1.

Las Micorrizas

Vesículo Arbusculares

Su historia

Todo comenzó cuando el investigador alemán, Albert Bernhard Frank (1839-1900), acuñó el término en 1885. Pero él no fue el primero en darse cuenta de la asociación “simbiotista”, como se llamó por primera vez, sino Theodor Harting, en 1860, ya describió una especie de manto alrededor de las raíces de pinos, pero falla en relacionar ese manto con su origen, ya que él pensaba que era una excrecencia de las células de las paredes de la raíz (algo pegado a la raíz). Así pues, Frank y otros investigadores contemporáneos comenzaron a describir y relacionar el origen de ese manto, descubriendo las ectomicorrizas, la simbiosis y acuñando el término Micorriza “Hongo-Raíz”.

En un artículo de la prestigiosa revista *Mycorrhiza*, el investigador de la universidad de Oregón, James M. Trappe, cuenta como Albert B. Frank, fue un hombre que tuvo que luchar por sus convicciones, el hecho de que un hongo fuera beneficioso para las plantas, puso en pie a toda la comunidad científica, debido a que por aquel entonces, los hongos eran microorganismos parásitos que provocaban enfer-

medades, y de ninguna manera podría pensarse en un hongo que, como describe en su artículo de 1885 *“realiza una función de “nodriza” y realiza toda la nutrición del árbol desde el suelo ... Esta dependencia recíproca, que acompaña el crecimiento de ambos socios y las estrechas interrelaciones fisiológicas que deben existir entre los dos, parecen ser un nuevo ejemplo de simbiosis en el reino vegetal ...”*.

En definitiva, nos encontramos ante una persona que no solamente describió perfectamente la simbiosis entre hongo y planta, sino que, debido a ello, tuvo que sufrir el rechazo de sus descubrimientos, por parte de la comunidad científica. Curiosamente, en nuestros tiempos sigue ocurriendo lo mismo, pero ahora los detractores son las personas que piensan que no se puede hacer una agricultura sostenible, sin utilizar insumos químicos, en lugar de entender y saber manejar las funciones ecológicas que la biodiversidad existente en un cultivo, pone a nuestra disposición. Este es el caso de las micorrizas, que, en lugar de conservarlas para nuestro bien, las eliminamos del sistema, por medio de fungicidas, porque seguimos pensando que todos los hongos son parásitos, y todo lo que desconocemos afecta al cultivo de manera negativa. La oposición de muchos evolucionistas, ecologistas, agrónomos y los silvicultores a considerar la importancia del ecosistema suelo, se está desvaneciendo: lo que se ve por encima de la raíz, es una función de lo que sucede debajo de ella, un hecho que no se puede ignorar racionalmente (Trappe, 2005).



Albert Bernhard Frank (1839-1900)

Funciones

Después del artículo de Frank en 1885, se han publicado unos 20 mil artículos relacionados con las micorrizas, verificando sus hipótesis y dando más luz al fenómeno/tema. Como hemos comentado antes, las micorrizas establecen una unión con la planta a través de la raíz, en principio nutriéndola, pero con el tiempo y las nuevas tecnologías se han descubierto funciones que antes se desconocían.

Nutrición (Biofertilizantes)

En esta relación simbiótica, el hongo recibe de la planta, azúcares y lípidos, ya que, por su naturaleza, no pueden realizar la fotosíntesis, es decir, no pueden transformar en azúcares el CO_2 y el H_2O a partir de la energía lumínica. El hongo por su parte nutre a la planta principalmente de fósforo y nitrógeno, pero no se queda ahí la cosa, actualmente sabemos que el hongo aumenta el área de absorción de la planta de 100 a 1000 veces, no sólo porque es una extensión del sistema radicular de la planta, sino porque puede llegar a sitios donde las raíces no caben. Debido a sus peculiaridades, los hongos micorrícicos tienen más afinidad por el fósforo que las raíces de la planta, por lo que pueden absorberlo más fácilmente, también poseen una batería enzimática, una colección de enzimas que degradan los compuestos orgánicos en minerales que antes no estaban a disposición de la planta, por encontrarse en un estado en el que las raíces no pueden absorberlos. En cuanto a macro y micronutrientes, las micorrizas ayudan a la absorción de muchos de ellos, hay estudios que han demostrado que aumentan a absorción de K, Mg, S, Ca, Zn, Cu, Fe (Gosling et al, 2006; Gianinazzi et al., 2010; Bücking et al., 2012; Berruti et al., 2015). En definitiva, el hongo actúa como un biofertilizante, con la capacidad de transformar el suelo como veremos más adelante.

Suelo (Bioingenieras)

Hablar de las bondades de las micorrizas en el suelo nos llevaría mucho espacio, por lo que vamos a ir a lo verdaderamente importante. Las endomicorrizas fabrican una proteína que ahora en el siglo XXI, se entiende como básica para la formación del suelo: la Glomalina. Pero ahí no acaba la cosa, se ha demostrado que las endomicorrizas pueden definir el hábitat y las especies que lo conforman, pueden

comunicar plantas, bosques enteros; pueden conocer el estado de salud de una planta y comunicárselo a las demás mediante las redes de filamentos (hifas) que discurren por las capas superficiales del suelo. Pueden y, de hecho, son un gran sumidero de carbono, fabrican un polisacárido (unión de cadenas de azúcares) llamado quitina (quizás más conocida porque forma parte del exoesqueleto de los insectos) que retiene gran parte del carbono en el suelo. En fin, realizan muchas funciones en el suelo, pero hablemos de la Glomalina.

La Glomalina fue descubierta por Sarah F. Wright, una científica del Servicio de Agricultura americano (USDA), en 1996, antes de ayer, y fue descubierta tan tarde porque, y son palabras de Sarah Wright “*se requiere un esfuerzo inusual para separar la glomalina para su estudio: un baño en citrato combinado con calentamiento a 250° F (121° C) durante al menos una hora ... Ningún otro pegamento para suelo encontrado hasta la fecha requirió algo tan drástico como este*”. La Glomalina se perdió durante mucho tiempo en el humus, la materia orgánica que a menudo se llama “oro negro”. Cuando apareció en las mediciones de humus, se pensó que era un contaminante. Esta proteína es la encargada de dar rigidez a las hifas y unir los minerales del suelo proporcionando estructura y calidad al mismo, protegiéndolo de la erosión. A medida que las raíces crecen, la Glomalina se desprende del suelo, donde actúa como un “superpegamento”, lo que ayuda a que las partículas de arena, limo y arcilla se adhieran entre sí y a la materia orgánica que da vida al suelo. Es la Glomalina la que ayuda a que la tierra se sienta bien. La Glomalina no es solo el pegamento que mantiene el humus en las partículas del suelo, en realidad hace mucho de lo que se le atribuye al humus. Debido a que hay mucha más Glomalina en el suelo que ácido húmico, en una fracción extraíble de humus, la Glomalina almacena el 27 % del carbono total del suelo, en comparación con el 8 % del ácido húmico. También proporciona nitrógeno al suelo y le da la estructura necesaria para retener el agua y para una aireación adecuada, el movimiento de las raíces de las plantas y la estabilidad para resistir la erosión. La Glomalina tarda entre 7 y 42 años en biodegradarse y los niveles más altos de Glomalina se ha encontrado en suelos volcánicos de Hawai y Japón. Existe una estrecha relación entre la cantidad de Glomalina y la fertilidad del suelo y solamente los hongos micorrícicos la fabrican, es decir: si eliminamos los hongos micorrícicos del suelo, perdemos el suelo, cultivaremos en una gran maceta inerte donde tendremos que añadir los nutrientes sintéticos u orgánicos constante e insosteniblemente.

Otras funciones

Como hemos comentado anteriormente la red subterránea producida por la conexión de las hifas de hongos micorrícicos, red micorrícica, comunica a sus plantas huésped entre sí. La película Avatar mencionada en el prólogo muestra en ficción cómo estas conexiones en realidad existen.

Estas redes tienen distintas funciones ecológicas. Las respuestas de comportamiento de las plantas que se han medido hasta ahora incluyen cambios rápidos en la colonización de micorrizas, crecimiento de raíces, crecimiento de brotes, tasa fotosintética, nutrición foliar, química de defensa foliar y respuesta de defensa. Por ejemplo, las habas (*Vicia faba*) respondieron al ataque de pulgones transfiriendo rápidamente señales de defensa a través de la red micorrícica a las plantas de habas vecinas, que respondieron a su vez produciendo químicos repelentes de pulgones y atrayentes de depredadores de pulgones (Babikova et al. 2013). En otro estudio de plantas de tomate conectadas a través de una red de endomicorrizas, una planta no infectada por un patógeno fúngico mostró evidencia de fabricar químicos defensivos cuando otra planta de la red estaba infectada, lo que provocó que la planta no infectada regulara positivamente los genes que producen estas defensas químicas. En un bosque de abetos de Douglas, se demostró que a través de estas redes los árboles ya senescentes transfieren nutrientes a las plántulas jóvenes para asegurar su supervivencia y la renovación del bosque.

Podríamos seguir hablando de las redes micorrícicas durante muchos capítulos, los científicos llevan una veintena de años estudiando la influencia de estas redes en la ecología de distintos hábitats, pero vamos a dejar al lector o lectora con las ganas de seguir conociendo a estos hongos mágicos, no hay mejor libro que el que te incita a la búsqueda del conocimiento, a querer saber más.



Capítulo 2. Cultivo y observación de hongos micorrícicos

Introducción

*Dra. M^a Angélica García Álvaro.
CEO y socia cofundadora de Clean-Biotec*

Uno de los principales objetivos del proyecto que teníamos entre manos era producir hongos micorrícicos, pero para ello teníamos que conocer algunas claves para buscarlos y luego para asegurarnos que los habíamos encontrado. Para encontrarlos debemos buscar aquellos lugares en el suelo que veamos gran biodiversidad natural y que especialmente encontremos leguminosas y gramíneas y con cierta frescura. Una vez que identificamos los lugares nos llevamos una pequeña fracción de ese suelo con sus raíces al laboratorio donde aplicaremos algunas técnicas para detectar y cuantificar raíces micorrizadas.

Las técnicas para detectar y cuantificar micorrizas arbusculares en las raíces son herramientas esenciales en la investigación y seguimiento de micorrizas. Estos métodos se utilizan principalmente para identificar asociaciones micorrícicas y medir el grado de colonización de la raíz. Hay una amplia gama de técnicas basadas en microscopía óptica que se utilizan para su detección y cuantificación en raíces incluyendo observaciones in vivo de estructuras fúngicas en raíces vivas, métodos de tinción no vitales y métodos vitales de tinción de raíces. Además, existen métodos alternativos como son los bioquímicos con marcadores característicos para la simbiosis (Bothe et al. 1994, Frey et al. 1992, Schmitz et al. 1991) y herramientas moleculares cuantitativas y cualitativas recientemente desarrolladas (Alkan et al. 2004, Sanders 2002). Dependiendo del enfoque experimental, las técnicas bioquímicas y moleculares pueden ser herramientas fiables para la identificación y/o cuantificación de hongos micorrícicos arbusculares en las raíces y, por lo tanto, una alternativa real a la tinción de las raíces (Vierheilig, 2005). Sin embargo, en comparación con las técnicas de tinción, consumen mucho tiempo y son costosas y, por lo tanto, no resultan prácticas para el uso rutinario. Así, la tinción de las raíces y el recuento de las estructuras fúngicas observadas en la raíz por microscopía de luz de rutina sigue siendo la técnica estándar para la cuantificación de la colonización de la raíz por hongos micorrícicos arbusculares.

Los métodos de tinción y microscopía no sólo proporcionan datos fiables sobre el grado de colonización de las raíces, sino que también permiten visualizar la presencia de características clave como los arbusculos, que son los criterios morfológicos que definen las asociaciones de micorrizas arbusculares (Brundrett 2004). Para la observación de estos criterios morfológicos, es esencial que el material radicular se procese de tal manera que estas características anatómicas definitorias puedan ser fácilmente detectadas. Los métodos basados en microscopía electrónica proporcionan herramientas de gran potencia para revelar detalles finos, pero no son adecuados para la cuantificación rutinaria y la identificación de las asociaciones micorrizas

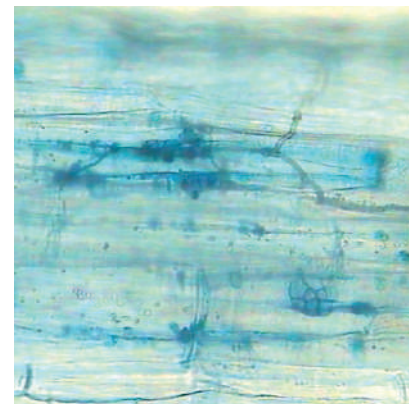
Entre los métodos rutinarios diferenciamos dos grupos, no destructivos y destructivos.

1.- Métodos no destructivos en raíces vivas

La visualización de estructuras fúngicas arbusculares en raíces por métodos no destructivos es posible en ciertas circunstancias. Los métodos no destructivos generalmente no incluyen ninguna tinción, ya que esto normalmente requiere la limpieza y, por lo tanto, la eliminación de la raíz. Estos métodos utilizan luz visible, epifluorescencia o microscopía de escaneo láser confocal (CLSM) y permiten observar las raíces sin teñir o teñidas con fluorocromos específicos. Los métodos no destructivos son únicos en el sentido de que permiten observar en cierta medida los procesos dinámicos de actividad del hongo en las raíces. Aunque las raíces escindidas son las que se utilizan en la mayoría de los estudios, estos métodos también permiten estudiar las raíces de plantas intactas enteras, es decir, estas plantas intactas pueden ser devueltas a su sustrato tras la observación y seguir creciendo.

2.- Métodos destructivos

A su vez se dividen en métodos de tinción vital y no vital, las primeras utilizan la actividad de ciertas enzimas específicas del hongo para visualizar el tejido fúngico fisiológicamente activo como la actividad succinato-deshidrogenasa o fosfatasa, mientras que las segundas, no vitales, tiñen tanto tejidos fúngicos activos como inactivados y consisten en la limpieza de las raíces, aclarado con una solución alcalina y tinción ácida y en caliente.



Estructura de Micorrizas 400x



Métodos de tinción y microscopía

Cómo encontrar Micorrizas Vesículo Arbusculares (MVA)

Las micorrizas vesículo arbusculares o mejor llamadas micorrizas arbusculares, ya que no todas producen vesículas, se encuentran en el 90% de las plantas vasculares, por lo que podríamos decir que es sencillo encontrarlas. En nuestro proyecto las buscamos y encontramos en el bosque de pinos cerca de Nalda, de camino a la ermita de San Marcos, en una pradera en los alrededores de Nalda y en los lindes de la huerta “Los Majuelos” donde la economía solidaria promovida por El Colletero comienza, ahí es donde se llenan las cestas del club de consumo de estas mujeres emprendedoras, innovadoras y sobre todo y ahora un poco más cuidadoras. Son pues endomicorrizas Naldenses, y aunque Nalda significa “cuesta” no nos “costó” mucho encontrarlas.

Para ello, tomamos muestras de suelo con raíces de plantas (hospedantes de HMVA), normalmente de las plantas que más vigor tenían. Se recogieron con pala, cavando a 20-30 cm de profundidad. Esas muestras fueron almacenadas en el laboratorio de Clean-Biotec para detectar la presencia de micorrizas mediante la metodología descrita más abajo.

Cómo iniciar el cultivo de MVA

Para producir el inóculo inicial con el que iniciaremos el cultivo a mayor escala, utilizaremos las muestras recogidas y procederemos a su multiplicación mediante plantas “trampa”, plantas muy susceptibles de micorrización por una o varias especies de Hongos MVA. Se utilizaron macetas de diferente volumen con 1:3 (suelo muestra: arena : vermiculita), como sustrato. Antes de añadir el suelo muestra con HMVA, el sustrato utilizado se esterilizó previamente mediante una olla a presión enorme, llamada autoclave, con esto evitamos microorganismos no deseados (posibles enfermedades que pueden transportarse en la tierra) e iniciamos un cultivo lo más limpio posible.

Los inóculos se producirán bajo ambiente controlado utilizando una mezcla de abono verde (mezcla de gramíneas y leguminosas) e incorporando albahaca como plantas hospedadoras. Las semillas germinarán en semilleros de plástico cónico con profundidad suficiente para un buen desarrollo radicular y tras un mes se trasplantarán a

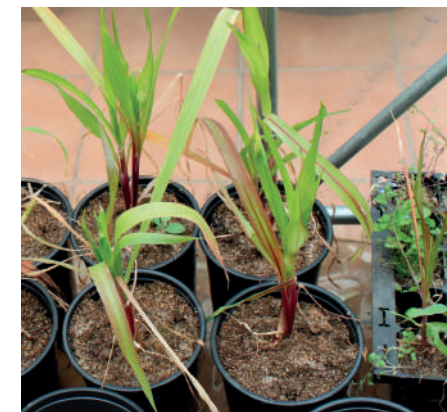
macetas de mayor volumen con sustrato compuesto por arena, vermiculita y compost en proporción 4:4:1. Y ya solamente queda esperar a que las plantas se desarrollen, momento en que las cortaremos y nos quedaremos con el sustrato y el sistema radicular donde se habrán desarrollado las micorrizas.

Técnicas básicas de tinción y visualización de MVA

Para la tinción de endomicorrizas cogeremos 1 gramo de raíces extraídas del suelo o de la planta (las más finas) y se lavan durante dos minutos con agua abundante, (comprobaremos por rutina que el pH se encuentra entre 7 y 8 y el nivel de cloro que se encuentre entre 0,2 a 0,8 ppm). Una vez hemos limpiado de tierra e impurezas las raíces, éstas se pasan a vasos de vidrio de 250 ml. Para poderlas observar bajo el microscopio se clarifican con hidróxido de potasio (KOH) al 10% hasta que todas las raíces quedan cubiertas y se mantienen al baño maría a 90 °C durante una hora (dependiendo del tamaño de la raíz puede ser más o menos). Una vez aclaradas se elimina el hidróxido de potasio lavándolo con agua y se añade ácido clorhídrico (HCL) al 2% durante una hora a temperatura ambiente. Luego se elimina el HCL y se lavan las raíces con agua. Finalmente, se aplica la tinción con tinta azul Pelikan como colorante acidificado con acético (vinagre) y se deja al baño maría a 90 °C durante una hora; transcurrido este tiempo se decanta el tinte y las raíces se depositan en placas de Petri con glicerol. Las placas ya pueden transferirse a un microscopio para su observación.



Recolección muestras



Plantas trampa

PROTOCOLO PARA INOCULAR SEMILLAS Y PRODUCIR PLANTA MICORRIZADA

1. PREPARAR MEZCLA PARA SUSTRATO: ARENA : PERLITA : COMPOST 4:4:1

2. LLENAR 4/5 DE LOS ALVEOSOS DE SEMILLEROS CON SUSTRATO

3. CUBRIR CON UNA CAPA FINA DE INÓCULO DE MICORRIZAS PRODUCIDAS

4. RELLENAR CON OTRA CAPA SUSTRATO

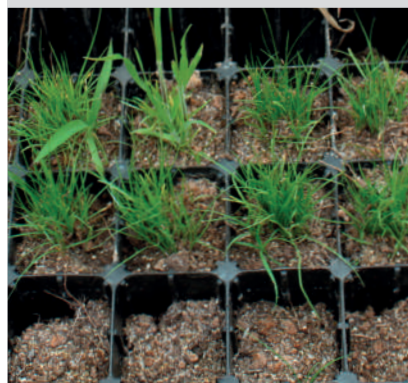
5. HUMEDECER Y SEMBRAR



1.



1.



4.

PROTOCOLO PARA PRODUCIR INÓCULO DE MICORRIZAS

1. SELECCIONAR ZONA CON MICORRIZAS NATURALES: alta diversidad (sobre todo leguminosas y gramíneas)

2. ELIMINAR LA CUBIERTA VEGETAL DE ENCIMA

3. SEPARAR BIEN RAÍCES DE PARTE VERDE Y MEZCLAR CON EL PROPIO SUELO

4. MEZCLAR AL 50% CON MEZCLA DE SUSTRATO ARENA:PERLITA:COMPOST 4:4:1

5. LLENAR UNA MACETA O BOLSA DE 30 l CON LA MEZCLA Y HUMEDECER

6. SEMBRAR EN 3 LÍNEAS: LEGUMINOSA, GRAMÍNEA Y AROMÁTICA (LABIADA) LLENAR UNA MACETA O BOLSA DE 30 l CON LA MEZCLA Y HUMEDECER

7. REGAR CUANDO SE PRECISE Y CORTAR LA GRAMÍNEA UN PAR DE VECES HASTA QUE SE PRODUZCA LA SENESCENCIA DE LAS PLANTAS

8. TRAS 5 MESES, DEJAR SECAR 1 MES, ELIMINAR CUBIERTA DEL TODO Y GUARDAR EL SUSTRATO CON ESPORAS Y PROPÁGULOS EN LUGAR SECO Y FRESCO.



1.



3.



6.



Capítulo 3.

Las endomicorrizas y Agricultura Ecológica

Los objetivos de la Agricultura Ecológica en la Unión Europea

La agricultura ecológica es un método de producción cuyo objetivo es obtener alimentos utilizando sustancias y procesos naturales. Por ello, la agricultura ecológica tiende a tener un impacto medioambiental limitado, ya que promueve:

- El uso responsable de la energía y los recursos naturales
- El mantenimiento de la biodiversidad
- La conservación de los equilibrios ecológicos regionales
- La mejora de la fertilidad del suelo
- El mantenimiento de la calidad del agua

Además, las normas de la agricultura ecológica persiguen un alto nivel de bienestar animal y exigen de los agricultores que respeten los hábitos de conducta específicos de los animales.

Por su concepción, la normativa de la Unión Europea en materia de agricultura ecológica proporciona una estructura bien definida para obtener productos ecológicos en toda la UE. La meta es satisfacer la demanda de productos ecológicos fiables que emana de los consumidores y garantizar, simultáneamente, un mercado equitativo para los productores, distribuidores y comercializadores (UE).

Hongos de micorrizas arbusculares en los sistemas agrícolas

La agricultura ecológica se ha desarrollado a partir de un amplio número de movimientos por todo el mundo; en Europa operan ampliamente dentro de las directrices marcadas por la UE. Aunque los métodos de producción exactos varían considerablemente, los principales incluyen la eliminación de la mayoría de los biocidas y fertilizantes sintéticos, la gestión de los suelos a través de la adición de materiales orgánicos y el uso de la rotación de cultivos. La exclusión de los fertilizantes minerales solubles y el uso limitado de biocidas en la agricultura orgánica significa que se depende en gran medida de los procesos biológicos para el suministro de nutrientes, incluyendo la dependencia de la fijación N_2 como la principal fuente de Nitrógeno para los cultivos, y para la protección de los cultivos de plagas y enfermedades. De hecho, uno de los paradigmas centrales de agricultura ecológica es que la comunidad microbiana del suelo activo es vital para el funcionamiento del agroecosistema (Lampkin, 1990).

Dentro de este marco, los Hongos que producen Micorrizas Arbusculares (en adelante, HMA) generalmente se consideran que desempeñan un papel importante y que pueden compensar el uso reducido de fertilizantes a base de Fósforo (P) (Gálvez et al., 2001). Muchos autores reportan niveles más elevados de colonización de HMA, mayor número de propágulos o mayor diversidad cuando se llevan prácticas de agricultura ecológica. Algunas pruebas indican que los HMA son realmente capaces de compensar aportes más bajos de P en sistemas ecológicos, aunque a veces encontramos resultados contradictorios.

Lo que es incuestionable es que la gestión convencional a largo plazo en la que están implicados elevados aportes de fertilizantes y biocidas reduce la diversidad de los HMA (Helgason et al., 1998; Daniell et al., 2001) y puede provocar que los HMA no sean eficaces cuando se aplican de forma externa (Johnson et al., 1992; Johnson, 1993) reduciéndose a pocas especies tolerantes a prácticas intensivas. El aumento de la diversidad de especies es vital para garantizar el desarrollo de una comunidad de HMA. Es necesario profundizar en los mecanismos implicados en la recolonización de tierras agrícolas por HMA, el tiempo requerido o las opciones de manejo más eficaces para acelerar el proceso.

Algunos estudios muestran que los sistemas orgánicos pueden no desarrollar comunidades de HMA efectivas incluso después de varios años (Scullion et al., 1998), como resultado de prácticas de manejo desfavorables para los HMA. Por ejemplo: Las concentraciones de P en suelo pueden permanecer demasiado altas (Dekkers y van der Werff, 2001) si los fertilizantes de P permitidos en la producción ecológica se siguen utilizando con frecuencia (Scullion et al., 1998) o el laboreo excesivo para controlar las hierbas o cultivo frecuente de cultivos que no micorrizan son prácticas que obstaculizan el desarrollo de una comunidad diversa de HMA, limitando el desarrollo de especies nuevas de HMA. La recolonización por otras especies de HMA puede tener lugar desde hábitats naturales adyacentes como son los linderos, matorrales, pastos y bosques cercanos, de ahí la importancia de mantener estos espacios vivos. Entre los vectores de propágulos se incluyen animales, raíces micorrizadas y partículas de suelo o agua (Warner et al., 1987). Las evidencias de recolonización de tierras agrarias abandonadas sugieren que se pueden establecer un amplio número de especies de HMA tras dos años de abandono (Hedlund, 2002; Hedlund and Gormsen, 2002).

Otro factor que influye en bajos rendimientos de la recolonización por HMA en algunos cultivos es la variedad plantada que no responde al HMA y, por lo tanto, no recibe todo el beneficio de la asociación de la Micorriza Arbuscular (MA), a pesar de que la colonización se haya producido (Manske, 1990; Hetrick et al., 1996; Aguilera-Gómez et al., 1998).

Manejo de los Agroecosistemas para maximizar los beneficios de la asociación de Micorrizas Arbusculares

A pesar del hecho de que los HMA se encuentran en sistemas agrarios ecológicos no siempre parecen ser los suficientemente eficientes (Eason et al., 1999) y beneficiosos en términos de rendimientos de cosecha (Ryan et al., 1994; Galvez et al., 2001), sin embargo, hay suficientes casos en los que los HMA tienen un efecto muy positivo que redundan en más beneficios. Las pruebas disponibles sugieren que la diversidad en las comunidades HMA aumentan las posibilidades de obtener efectos beneficiosos para los cultivos (van der Heijden et al., 1998a) y para el suelo agrario, de ahí también la importancia de usar

la micorriza autóctona. Así, el primer paso en la gestión de cualquier agroecosistema para fomentar el desarrollo de una comunidad eficaz de HMA es evitar las prácticas perjudiciales para la asociación MA y aumentar el uso de aquellas que son beneficiosas (véase la tabla siguiente). No obstante, esto puede no ser fácil debido a que las prácticas que favorecen el desarrollo de HMA pueden entrar en conflicto con otras operaciones de mantenimiento vitales para optimizar el desarrollo del cultivo.

A continuación, vamos a analizar las principales prácticas de la agricultura ecológica para favorecer el desarrollo de comunidades de HMA diversas:

- Fertilización
- Uso de biocidas
- Labrado
- Rotaciones de cultivos
- Inoculación de HMA

Tabla 1. Prácticas de manejo en agricultura ecológica y su efecto sobre las asociaciones de micorrizas.

TIPO DE PRÁCTICAS	EFFECTOS
PRÁCTICAS BENEFICIOSAS	
Uso de fertilizantes de baja solubilidad	Baja concentración de nutrientes disponibles en suelo favorece la colonización de HMA
Exclusión de biocidas	Se evitan los efectos tóxicos de los biocidas sobre los HMA
Periodos de reposo	Favorece el desarrollo elevado de propágulos de HMA
Rotaciones de cultivos diversa	Favorece comunidades diversas
PRÁCTICAS NEGATIVAS	
Labrado mecánico para el control de hierbas	Rompe la red de hifas micorrícicas
Barbecho desnudo	La falta de plantas hospedadora da lugar a una reducción en el número de propágulos disponibles.
Cultivos que no micorrizan	La falta de plantas hospedadora da lugar a una reducción en el número de propágulos disponibles.
Uso de fungicidas a base de Cobre	Son tóxicos para los HMA
Sobrefertilización	Inhibe la simbiosis entre el hongo y la planta

• La fertilización: Fertilizantes y otras enmiendas del suelo

En cualquier sistema ecológico, también el agroecológico, se ha de tener en cuenta que se produce un flujo de nutrientes, de entradas y de salidas, siempre que se cosecha un cultivo estamos extrayendo nutrientes que es necesario reponer, algunos de estos nutrientes, como el N se obtienen de forma biológica desde el Nitrógeno atmosférico mediante bacterias fijadoras de Nitrógeno, pero otros deben ser incorporarlos al sistema por otras vías.

El uso de fertilizantes fácilmente solubles está prohibido en los reglamentos de agricultura ecológica (IFOAM, 1998, REGLAMENTO (UE) 2018/848). Los agroecosistemas a menudo tienen, por ejemplo, concentraciones más bajas de fósforo disponible en el suelo que el equivalente en la agricultura convencional (Gosling y Shepherd, 2005). Hay investigadores que sugieren que las diferencias en la colonización de MA entre los sistemas convencionales y los ecológicos se deben, precisamente, a esta diferencia en la concentración del P en el suelo (Scullion et al., 1998; Mäder et al., 2000; Ryan et al., 2000). Algunos sistemas hortícolas con prácticas ecológicas se aportan cantidades importantes de estiércoles y compost, a veces, el uso excesivo de estas fuentes orgánicas de P puede dar lugar a la supresión o reducción de la comunidad de HMA (Jordan et al., 2000), por lo que se necesita siempre un equilibrio entre los aportes y las necesidades de las plantas micorrizadas para que optimicen los procesos biológicos que redunden en el beneficio para el agricultor.

• El uso de Biocidas

El uso de biocidas en la agricultura ecológica está severamente restringido (IFOAM, 1998, Norma UNE 315500:2017), sin embargo, los fungicidas basados en cobre y permitidos en ecológico, por ejemplo, son empleados en la producción de uva, fruta y patata, pueden resultar perjudiciales para que se establezca la simbiosis hongo-raíz. El oxiclورو de cobre es particularmente perjudicial para HMA, incluso en las tasas recomendadas de aplicación ecológica (Sreenivasa y Bagyaraj, 1989). Por lo tanto, lo prudente es limitar su uso siempre que sea posible. Como alternativa, los agentes de biocontrol, biofungicidas o biofungiestáticos, se pueden usar en ecológico para controlar hongos patógenos sin dañar la asociación MA (Ravnskov et al., 2002; Gaur et al., 2004).

La norma UNE 315500:2017 impide comercializar productos a base de microorganismos OMG (Organismos Modificados Genéticamente) y sustancias bien de origen animal o vegetal o productos producido u obtenidos a partir de OMG y han de estar registrados en el MAPAMA en el registro de productos sanitarios.

· El Labrado

En los últimos 20 años ha crecido el interés por reducir el labrado debido a su posible efecto sobre la calidad del suelo, los costes que supone o emisiones de CO₂ (FAO, 2001). El efecto inmediato de reducir el labrado es que aumentan los HMA, la densidad de hifas, al no romperse la red de micelio y se favorece la colonización de los cultivos (Anderson et al., 1987; Kabir et al., 1998; Gálvez et al., 2001), los cuales se van a beneficiar en la absorción de nutrientes y en su crecimiento. Sin embargo, el arado forma una parte importante de las estrategias de control de hierbas en los sistemas ecológicos (Bond y Grundy, 2001) y la ausencia de labrado o un labrado suave se traduce en un incremento de hierbas perennes que son difíciles de controlar en ausencia de herbicidas (Kouwenhoven et al., 2002; Torresen et al., 2003; Hakansson, 2003). Como consecuencia, existe un límite en el que el arado puede reducirse en los sistemas ecológicos manteniendo el control de hierbas adecuado, lo que debe ser prioritario frente a los beneficios inciertos del aumento de la colonización de HMA. Hay que tener en cuenta, que las malas hierbas también aumentan la probabilidad de generar propágulos especialmente en aquellos cultivos que no micorrizan, debido a que también micorrizan

· Rotaciones de cultivos

La rotación de cultivos es una de las piedras angulares de la práctica agrícola. Las rotaciones generalmente consisten en un período de reconstitución de la fertilidad seguido de un período de cultivo de efectivo. Una rotación bien diseñada y diversa, característica de muchos sistemas ecológicos, puede ayudar a la gestión de los requerimientos nutricionales de los cultivos y de plagas y enfermedades. También dará lugar a variaciones en los inóculos potenciales de HMA. Teniendo en cuenta esto en el diseño de rotaciones se pueden aumentar los beneficios disponibles de la asociación de Micorrizas Arbusculares.

Durante el periodo de descanso, las condiciones son favorables para la asociación MA ya que no se labra la tierra y por tanto la red de micelio puede mantenerse y expandirse, además se realizan enmiendas orgánicas y se añaden leguminosas que micorrizan fuertemente como *Trifolium* spp., *Medicago* spp. y *Vicia* spp. El resultado es el aumento del potencial del inóculo autóctono de HMA en el suelo (Menéndez et al., 2001; Oehl et al., 2003). El desarrollo de un cultivo que dependa en gran medida de HMA inmediatamente después del periodo de barbecho como las patatas (*Solanum tuberosum*) o el maíz realizarán un mejor uso de este potencial. Sin embargo, en sistemas ecológicos que incluyen brasicáceas tras el barbecho, que requieren una alta concentración del mineral del suelo N empeoran la red de micorrizas porque liberan ácido mostácico que les resulta perjudicial (Jaizme-Vega, 2019). Esto desperdicia el beneficio potencial del inóculo HMA producido durante el barbecho. La brasicáceas y otros cultivos que no micorrizan o lo hacen débilmente, se deben cultivar más tarde en la rotación, con sus correspondientes requerimientos nutricionales obtenidos de enmiendas orgánicas.

La inclusión de abono verde dependiente de micorrizas y cultivos de cobertera en la rotación es una práctica que aumenta el potencial de los inóculos de HMA y, a su vez, el crecimiento y rendimiento de los cultivos posteriores dependientes de HMA, más aún si también son micorrizados (Dodd y Jeffries, 1986; Galvez et al., 1995; Boswell et al., 1998).



Finca de tomates para estudio (Tomateco) con plantas micorrizadas y no micorrizadas. Nalda

· Inoculación con Hongos que forman Micorrizas Arbusculares

La transformación de una tierra agraria que se ha venido cultivando de forma convencional hacia un sistema de agricultura ecológica es un proceso largo, ya que los HMA han desaparecido o la comunidad de HMA sea testimonial y muy empobrecida. Establecer una comunidad de HMA diversa y eficaz después de la conversión a la práctica ecológica lleva varios años de forma natural (Scullion et al., 1998). En tales casos, el uso de inóculos comerciales puede ser una buena opción para empezar a diversificar la comunidad de HMA (Eason et al., 1999).

La inoculación directa de la planta huésped o del suelo con HMA comercial se ha visto que es capaz de aumentar la captación de Fósforo y de otros nutrientes; en algunos casos, también el rendimiento del cultivo, y reducir enfermedades en cultivos dependientes de MA. El problema con la inoculación con productos comerciales es que hay poca información para indicar qué especies de HMA serán más eficaces con las especies de cultivos y también existe el problema de competencia con los HMA nativos.

Los experimentos de inoculación han demostrado que las especies de HMA producen una amplia gama de respuestas de crecimiento en la planta anfitriona, desde significativamente positivo a significativamente negativo. A menudo, la concentración de fósforo en el suelo influye en la eficacia de la inoculación (Xavier y Germida, 1997; Hamel et al., 1997; Al-Karaki, 2002). Aunque al contrario de lo esperado, los cultivos que crecen en suelos con alta concentración de P disponible pueden responder más favorablemente a la inoculación que los que crecen en el suelo con poco P disponible, esto puede ser debido a que la comunidad nativa de MA ha sido deprimida en suelos con alta concentración de P disponible (Hamel et al., 1997). Los inóculos necesitan ser cuidadosamente seleccionados para garantizar que se utilice una combinación compatible de tipo: planta anfitriona : hongo : sustrato : inóculo (Azcón-Aguilar y Barea, 1997; Klironomos y Hart, 2002).

La tarea de seleccionar especies para usar en inóculos de HMA es tediosa por el hecho de que las especie de HMA más eficaces pueden diferir entre las plantas hospedadoras y pueden depender sobre si el objetivo principal es la absorción de nutrientes, resistencia a los patógenos o mejora de las relaciones hídricas. El fracaso para encontrar la combinación: planta anfitriona : hongo : sustrato : inóculo

más adecuada se puede explicar porque algunos inóculos utilizados hasta ahora no tienen un efecto beneficioso, a pesar de que el grado de colonización sea alto. Incluso cuando se identifica la combinación planta anfitriona : hongo : sustrato : inóculo, el problema sigue siendo la competencia con los HMA nativos del suelo.

Los HMA autóctonos se adaptan más al medio ambiente del suelo que las cepas introducidas y como resultado puede superar al HMA añadido y ser más eficaces que los inóculos introducidos (Klironomos, 2003. Harinikumar y Bagyaraj (1996) añadieron *Glomus intraradicis* al campo de cultivo y aunque ya había HMA introducido, este solo persistió durante una temporada. No obstante, la población nativa de micorriza puede ser tan eficaz como el inóculo introducido).

La inoculación directa de plantas cultivadas en invernadero, que luego son trasplantadas en el campo, es uno de los sistemas más exitosos en el establecimiento de colonización de micorrizas, y sólo requiere pequeñas cantidades de inóculo (Douds y Reider, 2003; Jaizme-Vega, 2019). Los resultados son diferentes en función de lo que se busque, a veces inocular HMA en un cultivo para mejorar su resistencia a enfermedades, no siempre lleva aparejado un rendimiento mayor de cosecha (Hamel et al., 1997). Sin embargo, la preinoculación no es práctica para cultivos extensivos.

En cuanto a producción extensiva, la preinoculación de HMA es más conveniente al inicio del barbecho, sin labrado y combinado con la presencia de legumbres, si es posible micorrizadas, para fomentar el desarrollo de HMA. Esta práctica va a tener, además, un efecto secundario muy positivo como es impulsar la fijación N₂ y contribuir a la nutrición fosforada de la legumbre (Jaizme-Vega, 2019). El inóculo también podría añadirse después del crecimiento de un cultivo de los que no micorrizan, ya sea para ayudar a la siguiente cosecha directamente o para aumentar el potencial de los HMA mediante el crecimiento de un abono verde antes de la siguiente cosecha.

A pesar de que en las dos últimas décadas se ha realizado una gran investigación de la aplicación de micorrizas y se conocen sus beneficios, todavía queda mucho por investigar para facilitar la aplicación de micorrizas en los diferentes cultivos y modalidades y sobre todo buscando la relación óptima entre HMA:variedad de cultivo anfitrión para lograr unos rendimientos de cultivos interesantes y que a su vez se mantengan todas las propiedades de los suelos también óptimas.



Capítulo 4.

Aplicación de MVA en campo

Cultivos experimentados

En esta sección se describe la experimentación realizada en cultivos hortícolas. El estudio de endomicorrizas y sus aplicaciones está generando mucho interés en estos últimos años. La aplicación de endomicorrizas en cultivos hortícolas ha sido objeto de estudio por numerosos investigadores alrededor del mundo. En España, entre otros, el Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA) realiza estudios en plataneras, vid y cítricos junto con el Instituto de Investigación y Tecnología Agroalimentarias (IRTA) Cabrils de Barcelona, éstos últimos tienen mucha experiencia en aplicación de micorrizas en cítricos; la Estación Experimental del Zaidín realiza estudios sobre ecología, biología molecular y biotecnología en micorrizas; la Universidad de Almería donde trabajan con ecto y endomicorrizas; la Universidad de Navarra que realiza estudios sobre micorrizas y cambio climático, etc...

En esta sección, procederemos primero a describir la metodología general utilizada para los campos de experimentación y seguidamente, los resultados obtenidos y su comparación con los resultados publicados en la literatura científica.

Diseño del campo experimental

Las plántulas utilizadas para las pruebas se inoculan en laboratorio dentro de semilleros de 20 cm de altura (como los utilizados para árboles) desde semilla.

Para ello preparamos el sustrato en el laboratorio, de la siguiente manera: Realizamos una mezcla que contiene 5 L de Termita (Vermiculita exfoliada, es un mineral derivado de la mica, compuesto por silicatos de aluminio, hierro y magnesio, es un material constituido por gránulos en forma de fuelle que contienen diminutas celdillas de aire), 5 L de arena de obra (que actúa como sustrato inerte), 0,36 g de fibra de coco que se hidrata hasta formar 3,24 L. De esta mezcla se toman 8 partes y se le añade una parte compost. El resultado es un sustrato pobre en nutrientes que favorece la micorrización. Se mezcla todo bien y se pasteuriza en botes de cristal de 2L a 80°C 2 h en una estufa de esterilización.

Se llenan los alveolos de los semilleros, en una mitad se le añade el equivalente a una cuchara de café del inóculo, antes de depositar la semilla y en la otra mitad no. Esto nos asegura que la raíz de la plántula va a alcanzar las endomicorrizas en el momento de la germinación.

Una vez que las plantas germinan y empiezan a echar las primeras hojas, se trasplanta a maceta con el mismo sustrato pasteurizado y con micorrizas las semillas que han germinado con el sustrato micorrizado. Trascorridas 3 semanas, dependiendo del cultivo, se llevan al campo experimental. Trasplantamos 20 plantas micorrizadas y 20 sin micorrizar, con una separación suficiente para evitar que las plantas micorrizadas puedan colonizar las no micorrizadas. Esperamos al desarrollo del fruto haciendo un seguimiento y cuidado del cultivo, igual para todas las plantas. Recogemos los frutos de las plantas centrales evitando las que limitan con las micorrizadas y viceversa, para asegurarnos, otra vez, de que las plantas micorrizadas puedan haber colonizado las plantas control, o no micorrizadas.

Para cada cultivo, micorrizado o no, se comprobó la ausencia o presencia de esporas de hongos micorrícicos para valorar si hubo simbiosis. Se pesaron los frutos y se valoró el estado sanitario de la planta. Recogemos una cantidad suficiente para poder establecer un tratamiento estadístico a los datos y éstos se procesan, para com-

probar si existen diferencias significativas entre los tratamientos, es decir si la producción es parecida o la simbiosis entre planta y hongo ha aumentado la producción manifestamente.

Seguidamente presentamos los resultados de cada cultivo:

RESULTADOS



Tomate

Para los estudios en tomate se utilizó la variedad Raft. El marco de plantación fue de 50 cm entre planta y planta y se dejó un espacio de 2 metros entre las filas de plantas micorrizadas y no micorrizadas. Los resultados obtenidos son la media de las campañas de 2018 y 2019.

Tras contar el número de tomates por racimo y medir el peso de cada tomate obtuvimos diferencias significativas en el peso medio del tomate y el peso del racimo de tomates. Así pues los tomates micorri-

zados pesaron una media de 114,5 gramos en comparación con los no micorrizados que pesaron 83,1 gramos. El peso total por racimo fue de 602,0 gr para plantas micorrizadas y de 439,3 gr en no micorrizadas. Esto supone un aumento del peso medio por tomate del 27% muy similar al aumento del peso por racimo.

En definitiva, obtuvimos un aumento importante del peso por tomate, sin utilizar fertilizantes, no detectamos diferencias en el estado sanitario de las plantas ya que en los dos tratamientos presentaron ausencia de enfermedades, y daños por plaga muy poco importantes.

En la bibliografía científica encontramos resultados muy similares en relación al aumento de producción en los estudios realizados. También otros autores han detectado aumentos en el estado nutricional de los frutos de tomate, en concreto, aumentos en la producción de beta-carotenos, que son la principal fuente dietética de provitamina A y dan un color rojo al fruto, aumento en el contenido mineral del fruto. Otros estudios señalan una mayor resistencia a nemátodos y patógenos del género *Phytophthora* (tizones). Para finalizar, otros estudios recalcan que la simbiosis en tomate, depende mucho de la variedad que se cultive y la especie de hongo micorrícico que se utilice.



Lechuga

La variedad de lechuga, *Lactuca sativa*, utilizada para estos ensayos fue Batavia. Estas se trasplantaron con una distancia de 30 cm entre lechuga y lechuga, dejando un espacio de 2 metros entre las micorrizadas y las no micorrizadas. Los resultados obtenidos se refieren a la campaña del 2019.

La medida del peso de las lechugas se hizo de dos maneras, con raíz y sin raíz. Por lo que se presentan ambos resultados y la relación entre la raíz y el peso de la planta. Se obtuvieron diferencias significativas en el peso de la lechuga ya fuera con o sin raíz, la media en plantas micorrizadas fue de 465 gramos con raíz, y 404 para la masa foliar, en plantas no micorrizadas el peso fue de 282 gramos con raíz y 236 solo la masa foliar.

De esta manera los resultados arrojan un aumento del 39% con raíz y del 41,7% midiendo solo la masa foliar. ¿Qué quiere decir esto? ¿Por qué se pesaron con y sin raíz? Las micorrizas aumentan el área de absorción de la planta, es decir realizan la función de raíces de la misma planta, por lo que la planta puede usar esa energía en producir hojas, vitaminas, etc... en lugar de utilizarla para producir raíces. Como hemos visto, aunque ligeramente mayor, existen diferencias entre la masa radical de las micorrizadas (que es menor) en relación con las no micorrizadas.

Resultados obtenidos por otros científicos muestran también aumentos en el peso de la planta y el calibre en lechugas iceberg. A su vez, otros estudios en cogollos de Tudela, Batavia y Maravilla, realizados por el equipo de la doctora Nieves Goicoechea, han demostrado aumentos a nivel nutricional, como la producción de carotenos y antocianinas, que ayudan a controlar enfermedades como la diabetes y la obesidad, potenciar el sistema inmunológico y reducir daños neurológicos; las antocianinas ayudan a la planta a protegerse de heladas y de la radiación ultravioleta.



Guisante

La variedad de guisante, *Pisum sativum*, utilizado para estos ensayos fue “voluntario”. Las plantas de guisante no se produjeron en laboratorio para ser trasplantadas. La siembra se realizó a “chorrillo”, que consiste en realizar un surco más o menos profundo en el suelo y esparcir las semillas de forma continua y lineal a lo largo de éste. Una vez realizado el surco se esparce sustrato con micorrizas y se procede a la siembra directa. Posteriormente se cubren las semillas aportando tierra al surco. Se sembraron dos filas separadas 2 metros, una micorrizada y la otra no.

En guisante la producción aumentó un 40% en comparación con los guisantes no micorrizados, este considerable aumento de cosecha, puede deberse a que el guisante, al ser una leguminosa, establece simbiosis con bacterias nitrificantes del género *Rhizobium*, lo que puede resultar en un efecto sinérgico o acumulativo al estar actuando las micorrizas y las bacterias.

No hay muchos estudios que relacionen la inoculación con micorrizas y la producción de guisantes. En un estudio llevado a cabo en

Dinamarca, midieron la inoculación con y sin tratamiento fungicida observando que el tratamiento con el fungicida Dazomet (que se obtiene a partir de mezclar disulfuro de carbono y metilamina diluida, formando una sustancia aceitosa, que es el ácido metilcarbamoditoico, a continuación, se añade formaldehído para obtener un granulado fino) eliminaba totalmente las micorrizas, mientras las no tratadas sí que establecieron simbiosis. En ese mismo estudio, comprobaron que la adicción de 60kg de P/Ha, no producía un mayor aumento en el índice de cosecha que las plantas micorrizadas sin fertilizar.

Berenjena

En el ensayo con berenjenas, *Solanum melongena*, inoculamos 10 plantas de la variedad “redonda morada”, con micorrizas y otras 10 sin micorrizar, en el laboratorio. A finales de Mayo se trasplantaron dejando una distancia de 2 metros entre filas y un metro entre plantas.

Se midió la altura de la planta en el momento de la primera recolección, el número de frutos por planta y el peso (planta y del fruto). Se obtuvieron diferencias en todos los parámetros, siendo mayor la altura de plantas micorrizadas, 88 cm frente a 85 cm, también se obtuvo un mayor número de berenjenas, un 14% más en micorrizadas, y lo mismo con el peso de los frutos que fue un 20% mayor en los micorrizados. En definitiva, obtuvimos un mayor número de berenjenas, con mayor peso en plantas micorrizadas que en las que no inoculamos, por lo que aumentamos la producción total en un 34%, por planta de berenjena.

Estudios realizados en berenjena por otros equipos de investigación muestran una tendencia similar. Un estudio elaborado en Colombia, muestra cómo el uso de coberturas orgánicas y micorrizas aumentó significativamente la producción de berenjena, que utilizando plásticos o herbicidas para el control de malas hierbas. Otros estudios realizados para desarrollar estrategias que minimizan el uso del agua utilizando micorrizas, muestran cómo reduciendo el riego hasta un 20% en cultivos micorrizados se pueden conseguir producciones iguales que en cultivos sin micorrizar sin reducir el riego.



Haba

Para los ensayos con haba, *Vicia faba*, utilizamos la variedad “roja”. Se plantaron 20 plantas micorrizadas y 20 sin micorrizar a una distancia de 40 cm entre plantas y 2 metros entre filas.

En las habas medimos el peso en seco de semillas de plantas micorrizadas vs no micorrizadas, realizando 10 grupos de semillas de 20 unidades en cada grupo. Obtuvimos un mayor peso seco en las primeras, pero sin grandes diferencias, un 6% más en el peso seco de las semillas micorrizadas. Quizás en peso seco no se observen grandes diferencias, o puede ser debido a que las micorrizas no actuaron en la variedad de haba que pusimos. Al ser una leguminosa esperábamos obtener los mismos resultados que en guisante.

Un estudio realizado en Iraq, muestra un aumento de producción de casi el doble en habas micorrizadas frente a no micorrizadas. Otro estudio realizado en Egipto, muestra cómo las plantas inoculadas con micorrizas arbusculares poseen mayor tolerancia a aguas contaminadas, concluyendo que pueden ser un aliado en zonas donde la contaminación es relativamente alta. El estudio compara plantas regadas con agua del Nilo y con agua contaminada.



Puerros

Para el ensayo con puerro, *Allium ampeloprasum var. porrum*, primero hicimos un semillero en febrero al aire libre, preparamos la cama que serviría de semillero, añadimos las micorrizas y las semillas, para más tarde cubrir de turba el lecho. Una vez la plántula se ha desarrollado, se pasa a cantero/renque y sigue su crecimiento normal. Una fila se puso con plantas micorrizadas y otra fila sin plantas micorrizadas. Una vez la planta está lista, se recoge, se lava y se pesa.

Para este ensayo solamente medimos el peso de la planta y comparamos las diferencias. Obtuvimos una media de 344 gramos en puerros micorrizados, contra 278 en no micorrizados. Cabe decir, que el peso de los puerros fue muy heterogéneo, pudiendo pesar hasta 600 gramos y bajar a 200 gramos en plantas micorrizadas, y unos 450 gramos de máximo y 150 mínimo en plantas no micorrizadas, pero en general el análisis estadístico arrojó una diferencia del 20% en peso.

Los trabajos realizados en puerro que podemos encontrar en la literatura científica muestran también aumentos en el peso, tamaño y número de hojas en puerros de vivero para trasplante y en producción, aunque hay trabajos que han observado una reducción en la actividad simbiótica conforme el puerro crece. Los trabajos que más

abundan sobre puerro, se dedican a estudiar la fisiología de la simbiosis, ya que el puerro presenta unas raíces gruesas, lo que facilita el estudio de la interacción hongo-planta. A su vez otros estudios han observado que la simbiosis potencia la descontaminación de zonas con exceso de nitrógeno reduciendo la lixiviación o la filtración del mismo.

Pimiento de padrón dulce

Para este ensayo utilizamos pimiento del padrón dulce, *Capsicum annuum*. Como en los ensayos anteriores, la planta se inoculó en laboratorio y luego se trasplantó en campo. Se utilizaron 20 plantas micorrizadas y 20 sin micorrizar en un marco de plantación de 40cm entre plantas y 1,20 metros entre filas (micorrizadas, no micorrizadas).

Se midió la altura de la planta en el momento de la primera recolección, el número de pimientos y el peso. Se obtuvieron diferencias en todos los parámetros, siendo mayor la altura de plantas micorrizadas, 98 cm contra 87 cm, también se obtuvo un mayor número de pimientos, un 25% más en micorrizadas, y lo mismo con el peso de los pimientos que un 5% mayor en los micorrizados. En definitiva, obtuvimos un mayor número de pimientos ligeramente más pesados, aumentando la producción alrededor de un 25%. En este caso no gracias al peso de los frutos, sino al mayor número de ellos en plantas micorrizadas.

Los datos obtenidos en otros estudios muestran este mismo patrón, plantas con mayor vigor, área foliar, y mayor producción. Estudios realizados para combatir el estrés en la planta, muestran una mayor resistencia a enfermedades de suelo, salinidad de los suelos, falta de agua e incluso a metales pesados que puede haber en suelos contaminados. A nivel nutricional no se han realizado muchos estudios, aunque algunos muestran un mayor contenido en capsaicina o capscina, que es la responsable de la sensación de picor, y que puede tener efectos beneficiosos en pacientes con neuralgias, además de prevenir formación de coágulos en sangre.

Espinaca

Los ensayos de espinaca, *Spinacia oleracea*, se llevaron a cabo con la variedad gigante de invierno. Las plantas se inocularon en laboratorio y luego se pasaron a campo. Se utilizaron 20 plantas micorrizadas y 20 sin micorrizar. Se utilizó un marco de plantación de 20 cm entre plantas y 2 metros entre filas, micorrizadas y no micorrizadas.

Una vez desarrollada la planta se pesó la planta entera sin raíz. Se obtuvo una media de 125 gramos en las micorrizadas y 130 en las no micorrizadas. Así pues, la simbiosis entre planta y hongo no tuvo los resultados de los otros cultivos en los que obtuvimos aumentos de producción en todos ellos.

En relación con la bibliografía consultada, la espinaca parece que no establece simbiosis con las micorrizas. Es decir, no todas las plantas se favorecen de la simbiosis entre el hongo y la planta. Por otra parte, sí que hay estudios en la bibliografía sobre la espinaca de agua o la espinaca india, pero que, aunque se llamen espinacas no pertenecen a la misma familia que la espinaca propiamente dicha. La espinaca de agua, *Ipomoea aquatica*, es una planta que acumula fácilmente metales pesados, y sí que hay estudios donde se mide la influencia de las micorrizas en la absorción de metales pesados en este tipo de espinaca. Lo mismo ocurre con la espinaca india, *Basella alba*, donde sí que encuentran diferencias en la producción con la inoculación de micorrizas.

Tabla 1. Datos de producción por cultivo, para los cultivos en los que se ha pesado el fruto

CULTIVO	DATO*	DIFERENCIA
TOMATE CON MICORRIZA**	126	26%
SIN MICORRIZA	100	
LECHUGA CON MICORRIZA	151	13%
SIN MICORRIZA	134	
GUISANTE CON MICORRIZA	282	40%
SIN MICORRIZA	203	
HABA CON MICORRIZA	35,7	6%
SIN MICORRIZA	33,9	
ESPINACA CON MICORRIZA	125	-4%
SIN MICORRIZA	130	
BERENJENA CON MICORRIZA	295	34%***
SIN MICORRIZA	254	
PUERRO CON MICORRIZA	344	20%
SIN MICORRIZA	278	
PIMIENTO CON MICORRIZA	98	25%****
SIN MICORRIZA	87	

*Peso en gramos. ** Media de dos temporadas. ***Se obtuvo un número mayor (14%) de berenjenas por planta. ****Se obtuvo un número mayor (25%) de pimientos por planta



Capítulo 5.

Las micorrizas en un contexto de cambio climático

Introducción

Dra. Nieves Goicoechea Preboste
Grupo de Fisiología del Estrés en Plantas. Departamento de Biología Ambiental. Facultad de Ciencias. Universidad de Navarra.

El cambio climático es una realidad que puede constatare revisando los datos históricos sobre la concentración de dióxido de carbono (CO₂) en la atmósfera y sobre las temperaturas diurna y nocturna. Los niveles de CO₂ en el aire han subido desde las 280 partes por millón (ppm) en la era pre-industrial hasta las actuales 400-415 ppm, y los modelos estiman que estos niveles continuarán ascendiendo durante las próximas décadas hasta las 1000 ppm en el año 2100. Si estas previsiones se cumplen, la temperatura ambiente irá incrementándose paulatinamente hasta alcanzar valores 4°C por encima de los niveles pre-industriales. A todo ello, además, hay que sumar las precipitaciones erráticas, con episodios de lluvias torrenciales combinados con otros de sequía severa.

En este contexto, la asociación de las plantas con hongos micorrízicos del suelo puede resultar determinante. Los hongos micorrízicos son hongos simbioses que se asocian con las raíces de la mayoría de las plantas, entre ellas, muchos cultivos incluidos en la dieta humana. Es bien conocido que las plantas que se asocian con estos hongos pueden alcanzar un mayor tamaño gracias al mejor aprovechamiento del agua y de los nutrientes minerales del suelo. Además, los hongos micorrízicos pueden proteger a las plantas frente a ciertas enfermedades y mejoran la estructura del suelo gracias a la formación de agregados resistentes a la erosión.

En escenarios de cambio climático, la asociación de las plantas con hongos micorrízicos puede resultar crucial para la supervivencia de la propia planta y, en el caso de los cultivos, también para la calidad nutricional de los mismos. Son numerosos los estudios que han constatado una mayor resiliencia de las plantas micorrizadas en situaciones de escasez de agua y salinidad del suelo. Por otro lado, aunque una atmósfera enriquecida en CO₂ puede favorecer, en primera instancia, el crecimiento de muchos cultivos, a medio o largo plazo provoca un descenso en la calidad de los mismos, puesto que los tejidos vegetales acumulan mayor cantidad de carbono en detrimento del contenido en proteínas y en oligoelementos (zinc, hierro, cobre, entre otros) esenciales para el correcto funcionamiento del organismo humano o animal. La mayor absorción de hierro, cobre o zinc del suelo propiciada por los hongos micorrízicos, unida a un mayor transporte de carbono desde las hojas de la planta hacia la raíz con el fin de alimentar y mantener al hongo, podría paliar este problema.

No obstante, el cambio climático también puede influir de forma directa sobre las comunidades de hongos micorrízicos presentes en los suelos. Aunque los estudios en campo son bastante escasos, la información recopilada revela posibles cambios en la composición de las comunidades de hongos micorrízicos que podrían derivar en una menor diversidad fúngica. La desaparición de algunas especies de hongos micorrízicos supondría cambios en la funcionalidad del colectivo de estos microorganismos beneficiosos para las plantas. Sin embargo, no todo son malas noticias: parece que un incremento en la temperatura del suelo favorece el crecimiento del micelio micorrízico que establece conexiones entre plantas vecinas y que permite explorar un mayor volumen del suelo con el consiguiente mejor

aprovechamiento de los recursos hídricos y minerales. En nuestras manos está preservar y cuidar esta red de hifas micorrízicas, crucial para toda la comunidad vegetal, evitando deteriorarla con la aplicación de prácticas de cultivo excesivamente agresivas para la integridad de las capas más superficiales del suelo y limitando el empleo de maquinaria agrícola pesada que provoca la compactación del terreno.

Las Micorrizas y secuestro de Carbono

Los ecosistemas terrestres secuestran anualmente alrededor de una cuarta parte de las emisiones antropogénicas de dióxido de carbono (CO₂), lo que ralentiza el cambio climático. Se estima que el 60% del carbono secuestrado en el suelo es gracias a las micorrizas. En una reciente publicación en la revista Nature, muestra que las transformaciones de los ecosistemas de la Tierra inducidas por ser humano han reducido la vegetación micorrízica, alterando las reservas de carbono terrestre. En particular, los resultados de este estudio sugieren que la restauración de vegetación nativa, especialmente en cultivos agrícolas abandonados y áridos, ayudaría a aliviar las pérdidas antropogénicas de carbono del suelo y aminorar los aumentos de los gases de efecto invernadero atmosféricos.

Seguidamente mostramos el estudio sobre absorción de carbono en plantas de alubia y tomate, realizado en colaboración con la alumna Guadalupe Valle García estudiante de Bachillerato Internacional del IES Sagasta.



Preparación de sustrato con micorriza

DISEÑO DEL EXPERIMENTO

Sistema de Cultivo

El sistema de cultivo que se ha utilizado se basa en la técnica del cultivo biointensivo en 1m², dividido en dos partes iguales. Ambas partes se llenaron del mismo sustrato compuesto por: Perlita, arena de sílice y compost en 6:3:1, la misma mezcla que se utiliza para los ensayos del proyecto.

Una vez hecho esto, se plantaron dos especies hortícolas: alubia y tomate. En cada uno de los lados se pusieron siete plantas de cada especie. En el lado izquierdo las plantas se pusieron inoculando las raíces con 6 cm³ de suelo con esporas y propágulos de endomicorizas autóctonas, proporcionados por el equipo de investigación, de esta forma teníamos 7 plantas de alubias micorrizadas y 7 control (sin micorrizar) y 7 plantas de tomate micorrizadas y otras 7 control (sin micorrizar).

Las plántulas se plantaron en el sustrato el 1 de julio de 2019. El único cuidado que recibieron las plantas fue el riego programado durante todos los días del verano, 2 minutos a las 8 de la mañana.



Tomates micorrizados en semillero

Toma de Muestras

Al inicio del experimento se tomaron 5 muestras de cada uno de los lados del minihuerto de los primeros 10 centímetros del sustrato artificial preparado con una cucharilla para comprobar, por un lado, que no hubiera diferencias entre ellos, y por otro, saber la materia orgánica de la que partimos al inicio. Estas muestras se guardaban en una bolsa de plástico de 25 cm³ y se etiquetaban poniendo número, lado que iba a ser micorrizado o no y fecha de toma de muestra.

Después de las ocho semanas de la plantación se volvió a tomar muestras del sustrato en el entorno más inmediato de cada planta. Las muestras se guardaban en una bolsa de plástico de 25 cm³. Cada muestra se etiquetaba con un número y poniendo si era alubia o tomate y si estaba o no micorrizada, junto con la fecha de recolección.

Todas las muestras eran llevadas al laboratorio para realizar con ellas los análisis.

Comprobación de micorrización

Una vez terminado el experimento del minihuerto, se tomaron raíces de tomate y alubia micorrizadas para comprobar que la micorrización había tenido lugar, Para ello se lavaron las raíces de las plantas con agua del grifo y se trataron con KOH al 10 % a 90 °C durante una hora para limpiar de restos orgánicos después se volvía a lavar con agua del grifo sobre un tamiz de 50 micrómetros de poro, se volvía a lavar con HCL 2% durante 5 minutos y, de nuevo se enjuagaban con agua del grifo. Seguidamente se teñían con una mezcla de 5 ml de tinta azul (Pelikan) 5 ml de ácido acético glaciar y 90 ml de agua desmineralizada y se dejaba una hora a 90°C. Tras este paso se enjuagaban bien con agua y se observaban al microscopio óptico. Las estructuras típicas de endomicorizas, arbusculos, vesículas e hifas se ven de un color azul intenso como se ve en la siguiente fotografía de una raíz de tomate con micorrizas.

Análisis de la Materia orgánica total (MOT) y del Carbono

El análisis de materia orgánica y carbono se llevó a cabo mediante la técnica de incineración a 400°C en horno mufla. Para ello se pesaba en una balanza de 4 cifras decimales una cápsula (Pc) y se añadía la

muestra (en torno a 5 g) (Pc+m), se secaba a 105°C 24 h en una estufa de desecación, se enfriaba y pesaba (Pc+m105°C) para obtener el peso seco del sustrato. Por último, se incineraba a 400°C 5 h en un horno mufla, se enfriaba y pesaba (Pc+m400°C).

La incineración elimina en forma de CO₂ toda la materia orgánica que hay en el sustrato y mediante la diferencia de la muestra seca e incinerada podemos calcular el porcentaje de materia orgánica total y el de Carbono.

$$\%MOT = ((Pc+m105^{\circ}C-Pc)-(Pc+m400^{\circ}C-Pc))*100/(Pc+m105^{\circ}C-Pc)$$

$$\%C = \%MOT/1,724$$

Recuento de microorganismos aerobios

Con las muestras frescas se llevaron a cabo recuento de microorganismos aerobios del sustrato mediante la técnica de recuento por diluciones seriadas y siembra en placa. Para ello de cada muestra se tomó un gramo de sustrato fresco y se diluyó en un tubo 9 ml de peptona tamponada estéril (dilución 1/10), de esta se tomó un ml y se pasó a otro tubo con 9 ml de peptona (dilución 1/10²) y así sucesivamente hasta la dilución 1/10⁸.

De cada uno de estos tubos se sembró un ml en placa con un medio genérico de cultivo de microorganismos TSA (Tryptona Soja Agar). Así para cada muestra teníamos 8 placas. Estas placas se pusieron a crecer a temperatura ambiente, puesto que se tratan de microorganismos ambientales, durante 5 días. Tras este periodo se hizo el recuento de colonias y se anotó tanto el número como la dilución.

Resultados

Tanto en el sustrato que rodea al tomate como a la alubia, pudimos observar un aumento en la cantidad de carbono y microorganismos al final del ciclo de cultivo, siendo estos parámetros mayores en el sustrato de las plantas micorrizadas, y dentro de las micorrizadas en el de tomate.

Tabla 2. Medidas de carbono en diferentes cultivos con o sin aplicación de micorrizas

CULTIVO	CARBONO INICIO*	CARBONO FINAL*
TOMATE CON MICORRIZA**	2,8	8,5
SIN MICORRIZA	2,8	3,2
ALUBIA CON MICORRIZA	2,8	5,4
SIN MICORRIZA	2,8	3,7

*Medido en %

Tabla 3. Medidas de microorganismos

CULTIVO	MICROORG. INICIO	MICROORG. FINAL
TOMATE CON MICORRIZA**	4,8	14,7
SIN MICORRIZA	4,8	5,6
ALUBIA CON MICORRIZA	4,8	9,4
SIN MICORRIZA	4,8	6,4

*Medido en %





Capítulo 6. Innovación Social

Introducción

El modelo de agricultura intensiva que se ha venido llevando a cabo durante las últimas décadas, ha contribuido enormemente a la degradación del suelo agrícola, a su pérdida de fertilidad y funcionalidad. Es necesario la inclusión de nuevas formas de manejo de suelo, que sirvan para conservar la funcionalidad de este o incluso potenciarla. Es necesario *Innovar* en el manejo del suelo.

Además de la parte técnica, los cultivos y los resultados obtenidos, siempre hemos creído muy importante en este proyecto el proceso de divulgación a la sociedad, con una mayor intensidad a los actores involucrados del sector agrícola. Una de las prioridades dentro de la Unión Europea ha sido la de estimular la innovación dentro del desarrollo rural. La Asociación Europea de Innovación (EIP) de agricultura productiva y sostenible, de reciente creación, pretende acelerar la innovación en el sector agrario, mejorando el intercambio y la transferencia de conocimientos (<https://www.mapa.gob.es/es/desarrollo-rural/temas/innovacion-medio-rural/eip-agricultura-productiva-sostenible/>). La UE define innovación como “... una idea puesta en práctica con éxito...”, incidiendo en la colaboración estrecha entre los distintos actores para conseguir un proceso efectivo (European Commission, 2014). Más allá de esta concepción de innovación, se encuentra la “innovación social”, que da relevancia a las dimensiones sociales y el papel de la innovación como servicio público (López Cerezo y González, 2013). Así pues, la viabilidad de un producto innovador no solo depende de las empresas, la investigación, sus relaciones y un adecuado respaldo financiero, sino que

depende en última instancia de un contexto social receptivo y favorable. La innovación social no es por tanto únicamente aquella que tiene a la sociedad en su fin, sino también la que tiene a la sociedad en su origen (López Cerezo y González, 2013).

Para la difusión del proyecto se preparó material informativo (tríptico y charlas) y carteles para informar sobre las charlas. A su vez hemos asistido a varias ferias agrícolas en Nalda, Logroño, Soria. En todos los eventos de difusión se repartieron trípticos y se anotó mediante firma y DNI para tener un registro de haber recibido la información; se distinguió entre personas pertenecientes al sector agrícola, o no. Toda la información sobre el proyecto se incorpora a la página web, www.micorrizas.elcolletero.org: actividades de difusión, resultados experimentales, así como los resultados del proyecto.

La ayuda mutua o simbiosis es un término interesante y que debería ser aplicado en nuestro día a día. Esto nos llevó a la preparación de un taller de juegos con micorrizas y el famoso caso del pez payaso y la anémona, con el que visitamos varios colegios en Logroño, explicándoles el proyecto y la importancia de la simbiosis para las relaciones humanas.

Cómo no, también hemos participado en congresos nacionales e internacionales, incluso participamos en un webinar organizado dentro del congreso Internacional CONAMA, donde pudimos presentar nuestro proyecto en un apartado dedicado a las funciones ecosistémicas y el desarrollo rural. Fuimos hasta Canarias, para participar en el encuentro INTERVEGAS, donde conocimos a mucha gente de multitud de sectores preocupados por la conservación de nuestros suelos agrarios.

Para finalizar esta pequeña sección, y uno de los mayores logros de este proyecto, fue el de unir en simbiosis a los miembros del Equipo pertenecientes al sector agrario, pero con una perspectiva distinta dentro del mismo, la asociación El Colletero, que trabaja para el desarrollo rural de Nalda y desde Nalda, el productor Gabriel Fabón, flamante ganador del último concurso hortícola que pudo celebrarse en Logroño, y Gonzalo Villalba, CEO de la empresa AgroVidar, con gran experiencia en difusión técnica.

El Colletero y el proyecto Micorriza

Asociación El Colletero: grupo de trabajo: Florencia Escudero Fonseca, Benita Escudero Valdemoros, Baldomero Sáenz Laya, José Manuel Fernández Laiño, Belen Balmaseda Rico, Ana Isabel Fernández Rico, Fabiola Pérez Moracia, Matilde Ballesteros Ramos, Raquel Ramírez García, Carlos Ramírez de la Concepción.

Había muchos motivos para que la Asociación El Colletero se interesara por el proyecto de micorrizar el suelo y las huertas para mejorarlos, aumentar la resistencia a las plagas y la sequía y realizar una acción más por el clima.

Tomando en cuenta nuestro proyecto de cultivo y comercialización, Huertas del Iregua, y de acuerdo a nuestra misión y visión de la Asociación El Colletero, el Proyecto Micorriza, encaja a la perfección, y quizás por ello, no tuvimos que pensar mucho y nos animamos a coordinar el equipo de trabajo desde el principio.

Nuestro modelo de desarrollo rural conlleva un enfoque ecosocial que nos empuja a aventuras como ésta. Aventura que además tiene otros ingredientes necesarios para nosotras que indicamos a continuación:

- Una innovación en nuestro quehacer agroecológico que siempre es deseable
- El hecho de conformar un equipo con personas de diferentes áreas y formaciones, entre los que se encuentran tanto doctores especialistas, como agricultores en la huerta y a su vez las personas pertenecientes a la asociación y sus experiencias en el camino hacia la sostenibilidad. Un equipo que ha tenido que superar el posicionamiento de cada miembro para saberse en algo más amplio que suma todos los saberes y las sinergias que se producen entre ellos.
- Nuestro trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible y sus metas, que, aunque el que tenemos más presente es el objetivo de lucha contra la pobreza a través del empleo y la formación, especialmente con el proyecto de producción y consumo en economía circular, en esta ocasión el protagonismo se dirige hacia el suelo, reconociendo además las indicaciones de Naciones Unidas:

“El suelo es, junto con el agua, uno de los recursos naturales no renovables más importantes que presta servicios ecosistémicos de excepción con trascendencia y repercusión medioambiental, económica y social. Los servicios que prestan los ecosistemas del suelo, y las funciones que soportan estos servicios, son indispensables para la supervivencia de los ecosistemas y para el ser humano”

No podemos olvidar que al menos 11 ODS dependen del suelo. Y a estos añadimos el objetivo 17 por la importancia que tienen las redes y alianzas.

Crear Comunidad en cada proyecto y acción, compartiendo ilusiones y trabajo por el medio ambiente y las personas.

Como hemos indicado antes uno de los objetivos más importantes de la asociación es buscar la posibilidad de empleo para las personas desempleadas de nuestro entorno. En este sentido este proyecto ha posibilitado empleo fijo para dos personas durante cuatro años y otros empleos temporales durante algunos meses. De este modo se ha podido convertir fondos de la administración en empleo.

Otro objetivo añadido ha sido la información y concienciación ambiental y el hecho de poner el suelo en el centro a través de la divulgación constante del proyecto.



Jornada cultivo y aplicación de micorrizas, Los Majuelos, Nalda 17/07/2019

Uno de los aspectos fundamentales ha sido la formación. Ésta se ha realizado en jornadas en diferentes zonas de La Rioja por un lado y por otro en jornadas en las fincas del proyecto donde se ha podido acoger a personas no solo de La Rioja, sino de otras partes del estado. Este aspecto ha cumplido con las expectativas de formación de El Colletero.

En todo el proceso se ha estado analizando si los alimentos producidos con planta o suelo micorrizados aumentan sus nutrientes. Ese estudio es importante a la hora de trabajar por una alimentación saludable y su incidencia en el estado de salud de la población. Seguiremos intentando experimentar en ello.

Se han realizado intercambios con personas y entidades tanto de la Rioja como de otras comunidades autónomas con las que participamos en red como REAS Rioja (economía solidaria), Red Intervegas (protección de suelos alto valor agroecológico) y FADEMUR (federación de mujeres rurales).

De este modo todas nuestras expectativas han quedado cubiertas con el proyecto, además de reforzar nuestro trabajo por los ODS y la agenda 2030 que trabajamos desde nuestro enfoque de cuidar a las personas y al planeta, en un caminar hacia Una Comunidad Cuidadora.

Ha sido un aprendizaje continuo el que hemos tenido como equipo. Es deseable que podamos seguir transmitiendo los saberes aprendidos, tanto desde el aspecto de las micorrizas y sus aplicaciones, como del humano y comunitario.

Agrovidar

Gonzalo Villalba Eguren

Desde la llamada Revolución Verde allá por los años 60, es un hecho que las prácticas agrícolas han ido en una línea claramente descendente respecto a la sostenibilidad del medio ambiente y de la economía familiar en pro de unos intereses exógenos al campesinado. A cambio, este campesinado ha vivido durante unas décadas en un espejismo de bonanza, pero que ya entrado el siglo XXI, ha demostrado que es el mercado globalizado manejado por unas pocas corporaciones, las que controlan la vida y la producción en el campo.

Estos intereses ajenos a la economía familiar y al cuidado del medio ambiente, tristemente, han convertido a la agricultura en una de

las prácticas más dañinas para el medio, a la vez que se desvirtúa el concepto de “campesino” de alguien que trabaja y vive la tierra a un mero operario de una cadena de producción, en el que no tiene ni voz ni decisión.

Actualmente, nos encontramos en un punto de inflexión marcado por el punto de no retorno respecto al cambio climático, la situación límite en cuanto a la sobreexplotación de los suelos y a la contaminación ambiental derivado del uso de sustancias químicas en la producción de alimentos. En este sentido, desde diferentes estamentos, como la Unión Europea se intenta frenar y revertir los procesos que nos han llevado hasta este punto, donde la agricultura es gran protagonista.

En este contexto, nos encontramos ante la que algunos consideran la “Cuarta Revolución Verde”, caracterizada por la utilización de bio insumos, sobre todo de carácter microbiológico, como solución a todos los problemas derivados de la agricultura. Tristemente, desde el mundo rural y campesino, ya conocemos el resultado de las “Revoluciones” impuestas desde despachos de multinacionales y fondos de inversión. La primera de las revoluciones ya la conocemos, posteriormente se habla de que la ingeniería genética y los organismos modificados genéticamente supusieron la segunda, la agricultura de precisión y la digitalización la tercera, por último, el boom de los insumos microbiológicos, la cuarta.

Pero si no corregimos los problemas de raíz, como la falta de soberanía de los agricultores sobre su producción, el modelo productivista para competir en un mercado despiadado que conlleva técnicas productivas dañinas para el suelo, el medio y las personas, y por último y no menos importante, el desconocimiento general de la población de cómo afecta su consumo a este contexto, de poco van a valer las “Revoluciones”, como ya hemos podido constatar tras 70 años de una tras otra.

En AGROVIDAR, desde su nacimiento en año 2008 hemos tenido una filosofía y unos objetivos claros que pasan por un cambio en el modelo productivo actual, buscando la sostenibilidad ambiental y de rentabilidad de las explotaciones agrarias, prestando servicios de acompañamiento, investigación y, sobre todo, divulgación de problemas y posibles soluciones. Por todo esto, cuando desde El Collete-

ro nos propusieron participar en el Grupo de Innovación Micorrizas, no dudamos en aceptar y poder aportar nuestro granito de arena.

Tras 13 años de trabajo en el mundo de la agricultura, con diferentes enfoques como el ecológico, permacultura, regenerativo, y sobre todo, agricultura denominada “convencional”, hemos podido constatar que existe la posibilidad de realizar prácticas agrícolas más respetuosas con el medio y sobre todo, que empoderan al agricultor, sin necesidad de depender de grandes compañías que parecen que han descubierto la piedra filosofal, cuando únicamente se han aprovechado de herramientas que la naturaleza nos provee, que son entre otras, los hongos micorrízicos. Es a este respecto donde hay que hacer hincapié, ya que estamos observando cómo los impulsores de la agricultura convencional, nos están vendiendo la panacea de los productos biológicos, sin cambiar la forma de cultivo y a la vez que nos venden una garrafa de glifosato.

Y poco se puede aportar más respecto a las micorrizas que no se traten ya en el presente libro, pero sí que este proyecto supone un ejemplo de que se puede salir de la rueda apisonadora del sistema agrario actual y de poder constatar que podemos utilizar el mayor banco de biotecnología, que es la propia naturaleza que está delante de nosotros, sin la necesidad de pagar fuertes sumas de dinero y haciendo al agricultor CONSCIENTE de lo que realmente pasa en su explotación.



Tomateco

Dr. Gabriel Fabón.

En mis primeros años de carrera en la Universidad de Navarra ya sabía que amaba el medio en el que vivimos, la naturaleza, el ecosistema y los seres vivos que lo habitan. Tras terminar Biología y Bioquímica tuve la gran suerte de entrar a realizar la tesis en el Departamento de Agricultura y Alimentación en la UR con los mejores jefes y compañeros que se pueden tener, fue entonces cuando me enamoré de la botánica.

Me hice joven emprendedor agrario y monté mi primera empresa, Tomateco, junto a mi compañera de viaje, Idoya Llobet. Arropado y apoyado en todo momento por la familia emprendí una nueva etapa: recuperar la variedad Tomate Corazón de Rioja del alto Cidacos y darla a conocer. Gracias a este viaje conocí a mis socios y compañeros de grupo de investigación, que tras estos años de duro esfuerzo son ya parte de mi camino. Raquel, del Colletero en Nalda, nos abrió sus brazos y nos propuso un reto emocionante al que estábamos encantados de abrazar, un proyecto que pudo ver la luz gracias a la subvención del Gobierno de la Rioja y que consistía en recuperar, multiplicar (bajo la supervisión de Angélica-CleanBiotec), investigar y aplicar las micorrizas del valle del Iregua. En este proceso el recurso humano fue un pilar maestro y una gran parte consistió en presentar y enseñar a otros agricultores las interesantísimas funciones de mejora en la producción de hortalizas, que conlleva el uso de micorrizas vesículo arbúsculares, de esta parte del proyecto se encarga nuestro Técnico Gonzalo de Agrovidar

En este trabajo de investigación y aplicación se ha intentado desde el principio el mayor de los retos, unificar e interconectar el mundo rural desde dos vertientes. La primera es entender la conexión tan profunda que se forma entre estos hongos tan beneficiosos y las plantas cultivadas en las Huertas del Iregua, junto al río que da nombre al valle con el fin de presentárselo a los agricultores. La segunda vertiente y la más compleja no es trabajar duro en el huerto para conseguir conectar las micorrizas con las raíces, sino desde una versión más holística, conectar el mundo rural y sus gentes, con la energía que todo ser vivo tiene, gracias a esta red fúngica tan saludable.

El trabajo bajo el plástico de los invernaderos ha sido duro pero agradable, de largas horas preparando la tierra. Sesiones de plantación de tomates junto a Mero, jornadas completas y continuas para ver crecer los ensayos micorrizados y sin micorrizar, unas veces regando en abundancia las parcelas, otras veces con periodos de sequía en los meses de verano y otoño. Trabajar los datos para llegar a conclusiones significativas ha sido una labor ejemplar llevada a cabo por nuestro Coordinador Javier Sáenz de Cabezón, la persona con más paciencia del mundo y con quien da gusto trabajar. Todo proyecto conlleva diferentes partes, una de las más gratificantes ha sido las buenas reuniones, café en mano, en los primeros meses con el fin de planificar el diseño y el marco de trabajo. Estas sesiones fueron casi truncadas por causa de la pandemia del Coronavirus SARS-CoV-2 en esta última etapa.

A lo largo de estos años se han realizado varias presentaciones y publicaciones que demuestran lo importante que es tener una tierra sana, llena de vida, dinámica y tratada de forma ecológica; una Tierra interconectada desde dentro y hacia afuera gracias a la red formada por las asociaciones micorrícicas.



Muestreo de guisantes micorrizados, finca de Los Majuelos, Nalda



XIII Congreso de Agricultura Ecológica, Logroño 15/11/2018



Jornada cultivo y aplicación de micorrizas, Venta Moncalvillo, Daroca 06/07/2020



Jornada cultivo y aplicación de micorrizas, Venta Moncalvillo, Daroca 06/07/2020



Jornada de cultivo, huerta Casa Rural Marem, El Rasillo 27/04/2021



Capítulo 7. Conclusiones

Cuando presentábamos el equipo de innovación “Micorrizas” todas las personas que se acercaban a informarse pensaban que íbamos a hablarles de trufas, hongos, setas; no estaban muy alejados del camino, pero cuando les hablábamos de nuestras endomicorrizas, que no ectomicorrizas, se les abrían los ojos y muchas personas no daban crédito a lo que les estábamos hablando. Nos ha parecido muy satisfactorio el poder descubrir un mundo nuevo a todas las personas que han podido ser partícipes de esta innovación social. La satisfacción que eso nos causaba y sigue causando es la mejor conclusión que podríamos obtener de este proyecto. El mostrar unos seres microscópicos que participaron en la creación del mundo tal y como es ahora, repito que sin las micorrizas no existiríamos, las plantas no podrían haber sobrevivido a las condiciones primigenias de este planeta. Como decía en su artículo el profesor Albert B. Frank “... realizan una función de “nodriza” y realizan toda la nutrición del árbol desde el suelo...” hacen de madres cuidadoras de las plantas, porque sin ellas se les hace muy difícil la supervivencia, lo creamos o no. Al suministrar nutrientes que de otro modo no se podrían ob-

tener, extraídos de los primeros suelos minerales de la Tierra a las primeras plantas sin raíces, es probable que los hongos micorrícicos antiguos hayan desempeñado un papel fundamental para facilitar la transición de una existencia acuática a una terrestre, facilitando el desarrollo de una atmósfera respirable durante cientos de millones de años (Field, Pressel, Duckett, Rimington, & Bidartondo, 2015).

El proyecto ha llegado a mucha gente, más de la que en un principio podríamos creer, solo en la página web tenemos unas 5000 visitas, más las ferias, más los congresos, más las jornadas... Esto nos da mucho ánimo para seguir con este proyecto que acaba y buscar otros más, para continuar defendiendo el suelo y sobre todo a los seres que lo forman y habitan, para mostrar a la gente que otro tipo de agricultura existe, que es posible hacer las cosas de otra manera. Que es posible la simbiosis entre seres humanos, entre las distintas formas de vida que habitan este planeta, que Moisés en el Génesis se equivocaba al escribir: *“Y los bendijo Dios diciéndoles: «Sed fecundos y multiplicaos; llenad la tierra y sometedla; dominad sobre los peces del mar, sobre las aves del cielo y sobre todo ser viviente que se mueve sobre la tierra»*



Congreso Internacional de Sistemas Agrarios Tradicionales. Tenerife 24/11/2019

Referencias Bibliográficas

- Aguilera-Gomez, L.I., Ramirez-Moreles, P., Frias-Hernandez, J.T., Chapa-Elizondo, A., Olalde-Portugal, V., 1998. Influence of *Glomus fasciculatum* on physiology and growth of three kinds of maize. *Phyton-Int. J.Exp. Bot.* 62, 101-107.
- Anderson, E.L., Millner, P.D., Kunishi, H.M., 1987. Maize root length, density and mycorrhizal infection as influenced by tillage and soil phosphorus. *J. Plant Nutr.* 10, 1349-1356.
- Andrea Berruti, Erica Lumini, Raffaella Balestrini and Valeria Bianciotto 2015 Arbuscular Mycorrhizal Fungi as Natural Biofertilizers: Let's Benefit from Past Successes. *Frontiers in Microbiology* 163.
- Azcón-Aguilar, C., Barea, J.M., 1997. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture, significance and potentials. *Sci. Hortic.* 68, 1-24.
- Bond, W., Grundy, A.C., 2001. Non-chemical weed management in organic farming systems. *Weed Res.* 41, 383-405.
- Boswell, E.P., Koide, R.T., Shumway, D.L., Addy, H.D., 1998. Winter wheat cover cropping, VA mycorrhizal fungi and maize growth and yield. *Agric. Ecosyst. Environ.* 67, 55-65.
- César Terrer, Sara Vicca, Bruce A. Hungate, Richard P. Phillips, I. Colin Prentice. 2016. Mycorrhizal association as a primary control of the CO₂ fertilization effect. *Science* 353: 6294
- Daniell, T.J., Husband, R., Fitter, A.H., Young, J.P.W., 2001. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising arable crops. *FEMS Microbiol. Ecol.* 36, 203-209.
- Dekkers, T.B.M., van der Werff, P.A., 2001. Mutualistic functioning of indigenous arbuscular mycorrhizae in spring barley and winter wheat after cessation of long-term phosphate fertilization. *Mycorrhiza* 10, 195-201.
- Dodd, J.C., Jeffries, P., 1986. Early development of vesicular-arbuscular mycorrhizas in autumn sown cereals. *Soil Biol. Biochem.* 8, 149-154.
- Eason, W.R., Scullion, J., Scott, E.P., 1999. Soil parameters and plant responses associated with arbuscular mycorrhizas from contrasting grassland management regimes. *Agric. Ecosyst. Environ.* 73, 245-255.
- EU - Web oficial de la Unión Europea: https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/farming/organic-farming/organics-glance_es
- Field KJ, Daniell T, Johnson D, Helgason T. Mycorrhizas for a changing world: Sustainability, conservation, and society. *Plants, People, Planet.* 2020;2: 98-103. <https://doi.org/10.1002/ppp3.10092>
- Frank AB (1885a) Ueber die auf Wurzel-symbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. *Ber Dtsch Bot Ges* 3:128-145
- Galvez, L., Douds Jr., D.D., Drinkwater, L.E., Wagoner, P., 2001. Effect of tillage and farming system upon VAM fungus populations and mycorrhizas and nutrient uptake of maize. *Plant Soil* 118, 299-308.
- Galvez, L., Douds, D.D., Wagoner, P., Longnecker, L.R., Drinkwater, L.E., Janke, R.R., 1995. An overwintering cover crop increases inoculum of VAM fungi in agricultural soil. *Am. J. Altern. Agric.* 10, 152-156.
- Gaur, R., Shani, N., Kawaljeet, K., Johri, B.N., Rossi, P., Aragno, M., 2004. Diacetylphloroglucinol-producing pseudomonads do not influence AM fungi in wheat rhizosphere. *Curr. Sci.* 86, 453-457.
- Gosling, P., Shepherd, M., 2005. Long-term changes in soil fertility in organic arable farming systems in England, with particular reference to phosphorus and potassium. *Agric. Ecosyst. Environ.* 105, 425-432.
- Hakansson, S., 2003. Weeds and Weed Management on Arable Land—An Ecological Approach. CABI Publishing, UK.
- Hedlund, K., 2002. Soil microbial community structure in relation to vegetation management on former agricultural land. *Soil Biol. Biochem.* 34, 1299-1307.

- Hedlund, K., Gormsen, D., 2002. Mycorrhizal colonization of plants in setaside agricultural land. *Appl. Soil Ecol.* 19, 71–78.
- Heike Bücking, Elliot Liepold and Prashant Ambilwade (September 17th 2012). The Role of the Mycorrhizal Symbiosis in Nutrient Uptake of Plants and the Regulatory Mechanisms Underlying These Transport Processes, *Plant Science*, Nabhin Kumar Dhal and Sudam Charan Sahu, IntechOpen, DOI: 10.5772/52570. Available from: <https://www.intechopen.com/books/plant-science/the-role-of-the-mycorrhizal-symbiosis-in-nutrient-uptake-of-plants-and-the-regulatory-mechanisms-und>
- Helgason, T., Daniell, T.J., Husband, R., Fitter, A.H., Young, J.P.W., 1998. Ploughing up the wood-wide web? *Nature* 394, 431.
- Hetrick, B.A.D., Wilson, G.W.T., Todd, T.C., 1996. Mycorrhizal response in wheat cultivars, relationship to phosphorus. *Can. J. Bot.* 74, 19–25.
- Ian McCallum, M. Luke McCormack, Joshua B. Fisher, Mark C. Brundrett, Nuno César de Sá & IFOAM, 1998. IFOAM Basic standards for Organic Production and Processing. IFOAM Publications, Germany.
- INVAM (International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi). (<https://invam.wvu.edu/>)
- Jaizme-Vega, M.C. 2019 Las micorrizas, una estrategia agroecológica para optimizar la calidad de los cultivos.
- James M. Trappe. 2005. A.B. Frank and mycorrhizae: The challenge to evolutionary and ecologic theory. *Mycorrhiza* 15: 277–281
- Johnson, N.C., 1993. Can fertilisation of soil select less mutualistic mycorrhizae? *Ecol. Appl.* 3, 749–757.
- Johnson, N.C., Copeland, P.J., Crookston, R.K., Pflieger, F.L., 1992. Mycorrhizae—possible explanation for yield decline with continuous corn and soybean. *Agron. J.* 84, 387–390.
- Jordan, N.R., Zhang, J., Huerd, S., 2000. Arbuscular-mycorrhizal fungi, potential roles in weed management. *Weed Res.* 40, 397–410.
- Kabir, Z., O'Halloran, I.P., Fyles, J.W., Hamel, C., 1998. Dynamics of the mycorrhizal symbiosis of corn (*Zea mays* L.), effects of host physiology, tillage practice and fertilization on spatial distribution of extra-radical mycorrhizal hyphae in the field. *Agric. Ecosyst. Environ.* 68, 151–163.
- Klironomos, J.N., Hart, M.M., 2002. Colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi using different sources of inoculum. *Mycorrhiza* 12, 181–184.
- Kouwenhoven, J.K., Perdok, U.D., Boer, J., Oomen, G.J.M., 2002. Soil management by shallow mouldboard ploughing in The Netherlands. *Soil Tillage Res.* 65, 125–139.
- Lambert, D.H., Cloe, H., Baker, D.E., 1980. Variation in the response of Alfalfa clones and cultivars of mycorrhiza and phosphorus. *Crop Sci.* 20, 615–618.
- Lampkin, N., 1990. Organic Farming. Farming Press Books, Ipswich, UK.
- Leho Tedersoo. Global mycorrhizal plant distribution linked to terrestrial carbon stocks. *Nature Communications*. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13019-2>
- Mäder, P., Edenhofer, S., Boller, T., Wiemken, A., Niggli, U., 2000. Arbuscular mycorrhizae in a long-term field trial comparing low-input (organic, biological) and high-input (conventional) farming systems in a crop rotation. *Biol. Fertil. Soil* 31, 150–156.
- Manske, G.G.B., 1990. Genetic-analysis of the efficiency of VA mycorrhiza with spring wheat. *Agric. Ecosyst. Environ.* 29, 273–280.
- Menéndez, A.B., Scervino, J.M., Godeas, A.M., 2001. Arbuscular mycorrhizal populations associated with natural and cultivated vegetation on a site of Buenos Aires province, Argentina. *Biol. Fertil. Soil* 33, 373–381.
- Mills BJW, Batterman SA, Field KJ. 2017 Nutrient acquisition by symbiotic fungi governs Palaeozoic climate transition. *Phil. Trans. R. Soc. B* 373: 20160503. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2016.0503>
- Mycorrhizal Association. <https://mycorrhizas.info>
- Norma UNE 315500:2017 Insumos utilizables en la producción vegetal ecológica. Productos para la gestión de plagas y enfermedades.
- Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Mader, P., Boller, T., Wiemken, A., 2003. Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of central Europe. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 2816–2824.
- P. Gosling, A. Hodge, G. Goodlass, G.D. Bending 2006 Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming *Agriculture, Ecosystems and Environment* 113 (2006) 17–35
- Pellegrino, E. and Bedini, S., 2016. Enhancing ecosystem services in sustainable agriculture: Biofertilization and biofortification of chickpea (*Cicer arietinum* L.) by arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biol. Biochem.* 68, 429–439.
- Pimentel, D., Hepperly, P., Hanson, J., Douds, D., Seidel, R., 2005. Environmental, energetic and economic comparisons of organic and conventional farming systems. *Bioscience* 55, 573–582.
- Ravnskov, S., Larsen, J., Jakobsen, I., 2002. Phosphorus uptake of an arbuscular mycorrhizal fungus is not effected by the biocontrol bacterium *Burkholderia cepacia*. *Soil Biol. Biochem.* 34, 1875–1881.
- Ryan, M.H., Chilvers, G.A., Dumaresq, D.C., 1994. Colonisation of wheat by VA-mycorrhizal fungi was found to be higher on a farm managed in an organic manner than on a conventional neighbour. *Plant Soil* 160, 33–40.
- Ryan, M.H., Graham, J.H., 2002. Is there a role for arbuscular mycorrhizal fungi in production agriculture? *Plant Soil* 244, 263–271.
- Schwartz, M.W., Hoeksema, J.D., Gehring, C.A., Johnson, N.C., Klironomos, J.N., Abbott, L.K., Pringle, A., 2006. The promise and the potential consequences of the global transport of mycorrhizal fungal inoculum. *Ecol. Lett.* 9, 501–515.
- Scullion, J., Eason, W.R., Scott, E.P., 1998. The effectivity of arbuscular mycorrhizal fungi from high input conventional and organic grassland and grass-arable rotations. *Plant Soil* 204, 243–254.
- Sieverding, E., 1991. Vesicular-arbuscular Mycorrhiza Management in Tropical Agrosystems. GTZ, Eschborn, Germany.
- Silvio Gianinazzi & Armelle Gollotte & Marie-Noëlle Binet & Diederik van Tuinen & Dirk Redecker & Daniel Wipf 2010 Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services *Mycorrhiza*.
- Sreenivasa, M.N., Bagyaraj, D.J., 1989. Use of pesticides for mass production of vesicular mycorrhizal inoculum. *Plant Soil* 119, 127–132.
- Torresen, K.S., Skuterud, R., Tandsaether, H.J., Hagemo, M.B., 2003. Longterm experiments with reduced tillage in spring cereals. I. Effects on weed flora, weed seedbank and grain yield. *Crop Prot.* 22, 185–200.
- van der Heijden, M.G.A., Klironomos, J.N., Ursic, M., Moutoglou, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A., Sanders, I.R., 1998a. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396, 69–72.
- Varma, A. and Amit C. Kharkwal, 2009. *Symbiotic Fungi, Principles and Practice*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2009.
- Warner, N.J., Allen, M.F., Macmahon, J.A., 1987. Dispersal agents of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a disturbed arid ecosystem. *Mycologia* 79, 721–730.
- White, P.J., Broadley, M.R., 2009. Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets e iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. *New Phytol.* 182, 49–84.





Equipo de Innovación **Micorrizas***

Cada vez hay mayor pérdida de fertilidad y funcionalidad biológica en suelos agrarios debido principalmente a un cultivo intensivo y un abuso de insumos químicos. La demanda de herramientas innovadoras que reviertan esta situación de manera más sostenible, ha promovido la formación del Equipo de Innovación “Micorrizas”, para con sus resultados contribuir a resolver los principales problemas actuales del suelo.

Con esta publicación queremos acercar a técnicos, agricultores y al público en general tanto los beneficios del uso de micorrizas como su cultivo. Y así contribuir a la reducción del impacto de la agricultura sobre nuestros suelos.



www.micorrizas.elcolletero.org



Unión Europea
Fondo Europeo Agrícola
de Desarrollo Rural



GOBIERNO
DE ESPAÑA
MINISTERIO
DE AGRICULTURA, ALIMENTACIÓN
Y MEDIO AMBIENTE



Gobierno
de La Rioja