

Variación del contenido de las proteínas del suelo relacionadas con glomalina por aplicación de biofertilizantes

Variation of glomalin related soil protein by biofertilizers application

Erika Nava-Reyna^{1*}, Vicenta Constante-García¹, María del Rosario Jacobo-Salcedo¹, Sandra Patricia Maciel-Torres², José Luis González-Barrios¹

¹ Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Relación Agua, Suelo, Planta, Atmósfera (CENID RASPA), INIFAP. Km. 6.5 margen derecha Canal de Sacramento, Gómez Palacio, C.P. 35140, Gómez Palacio, Durango.

*Autor para correspondencia: nava.erika@inifap.gob.mx

RESUMEN

La agricultura contemporánea busca estimular el crecimiento de las plantas y la producción agrícola mediante prácticas sustentables, por lo que la aplicación de biofertilizantes representa una opción viable, sobre todo en cultivos de alto valor agregado como el café. Se ha demostrado un efecto sinérgico entre hongos micorrízico arbusculares (HMA) y bacterias fijadoras de nitrógeno, incrementando la micorrización y la disponibilidad de nutrientes, así como mejorando el hábitat del suelo. Al incrementar la micorrización, se estimula la producción de glomalina por el hongo aplicado y los HMA nativos. Es por lo anterior, que la presente investigación tuvo como objetivo evaluar el impacto a corto plazo de la aplicación de *Glomus intraradices* y *Azospirillum brasilense* como biofertilizantes en cultivos de café sobre la producción de proteínas del suelo relacionadas con glomalina. Los resultados demostraron un incremento en todos los tipos de glomalina (fácilmente extraíble, difícilmente extraíble y total) cuando se aplicaron los bio-inoculantes, por lo que parece favorecer la micorrización y la estabilidad de los agregados en corto plazo; no obstante, es necesario realizar estudios posteriores para ver la evolución de dicho efecto a través del tiempo.

Palabras clave: *Glomus intraradices*, *Azospirillum brasilense*, café, carbono.

ABSTRACT

Contemporary agriculture seeks to stimulate plant growth and agricultural production through sustainable practices; therefore, the application of biofertilizers represents a viable option, mainly in high value-added crops such as coffee. A synergistic effect between arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and nitrogen fixing bacteria has been demonstrated, increasing mycorrhization and nutrient availability, as well as improving soil habitat. By increasing mycorrhization, glomalin production is stimulated by the applied fungus and native AMF. Hence, the present study aimed to evaluate the short-term impact of the application of *Glomus intraradices* and *Azospirillum brasilense* as biofertilizers in coffee crops on the production of glomalin-related soil proteins. Results showed an increase in all types of glomalin (easily removable, hardly removable and total) when the bio-inoculants were applied, so it seems to improve the mycorrhization and the stability of the aggregates in the short term; however, further studies are necessary to see the evolution of this effect over time.

Key words: *Glomus intraradices*, *Azospirillum brasilense*, coffee, carbon.

INTRODUCCIÓN

El café (*Coffea arabica* L.) es uno de los principales productos agrícolas a nivel mundial, dada su importancia económica. Este mercado en México alcanzó un valor de 2,697 millones de dólares en 2019 y se prevé un CAGR del 8.2% del mercado durante el periodo 2019-2023 (Statista, 2019). Este cultivo es el séptimo con mayor superficie de siembra en el país y el doceavo generador de divisas (SHCP, 2014). Por lo tanto, existe un gran interés por mejorar el manejo para incrementar la producción de grano de una manera sustentable. En este sentido, se han realizado estudios sobre el impacto de distintas prácticas agrícolas sobre la biodiversidad y la calidad del suelo en cafetos, encontrándose que los sistemas de cafetales de altura, con policultivo o árboles de sombra pueden incluso presentar mayor diversidad microbiana que los bosques nativos (Heredia y Arias, 2008; Posada et al., 2016), sobre todo en hongos micorrízicos arbusculares (HMA).

Los HMA se encuentran en cualquier ecosistema terrestre y forman asociaciones simbióticas mutualistas con más del 80% de las plantas terrestres, actuando como liga entre el suelo y las raíces. Estos microorganismos pueden promover el crecimiento de las plantas y la tolerancia a metales pesados mediante mecanismos como el acceso de la planta a nutrientes relativamente inmóviles y agua, la estimulación de la secreción de fitohormonas y el mejoramiento de las condiciones del microambiente en el suelo rizosférico (Miransari, 2011; Smith et al, 2011; Chanclud y Morel, 2016; Yang et al., 2017). Leifheit y col. (2014) sugieren también que los HMA inhiben la actividad de los microorganismos degradadores directamente, a través la remoción nutrientes localizados o alterando las condiciones de humedad, o indirectamente, proveyendo una fuente de carbono alternativa. Esta reducción en la descomposición de hojarasca puede ser importante en el ciclo de los nutrientes en suelos

con plantas leñosas y perennes que desarrollan raíces lignificadas. Más aún, dado que los HMA viven en simbiosis con las raíces de plantas, lo cual incrementa su biomasa y con ello la cantidad de carbono que el proceso de fotosíntesis provee al suelo, son particularmente sensibles a cambios en la fisiología de las estructuras subterráneas de las plantas a las que se asocian. Aunado a lo anterior, los HMA pueden contribuir a la estabilidad de los agregados del suelo por dos vías: directamente por el efecto físico de una red alrededor de las partículas del suelo o, indirectamente, por la exudación de una glucoproteína estable al calor que contiene hierro llamada glomalina, la cual actúa como un agente aglutinante de los agregados que protegen al carbono (Rillig, 2004).

La glomalina tiene como funciones cementar los agregados del suelo, contribuir a la estabilidad de los mismos y actuar como reservorio de carbono y nitrógeno del suelo. Por lo tanto, altas concentraciones de glomalina han sido relacionadas con la estabilidad de los agregados del suelo sobre todo en sistemas de manejo conservacionistas (Dai et al., 2017). La glomalina es aparentemente recalcitrante, pudiendo durar en los suelos de 7 a 42 años según las condiciones ambientales, el ecosistema y el manejo agrícola de los suelos, aunque estudios de incubación sugieren que pueden permanecer por periodos muchas más grandes en el suelo (Wright y Upadhyaya, 1996; Rillig et al., 1999; Singh et al., 2013). Por otro lado, esta proteína es insoluble en agua y en soluciones salinas comúnmente usadas en extracciones de compuestos del suelo (Wright y Jawson, 2001). Cuando se cuantifica mediante la determinación de proteínas por el método de Bradford, la glomalina contiene también proteínas que no son producidas por los HMA, además de una gran cantidad de proteínas estables al calor relacionadas con el suelo, por lo que se definen colectivamente como proteínas del suelo relacionadas con glomalina (PSRG). La cantidad de PSRG ha recibido una atención creciente en

los últimos años por su capacidad anti-erosión en la formación de agregados del suelo (Rillig *et al.*, 2004), la función de red física de las hifas de HMA (Ji *et al.*, 2019), la capacidad de carga de metales pesados (Yang *et al.*, 2017), el mantenimiento de la fertilidad del suelo (Wu *et al.*, 2016), el aumento de la captura de C del suelo (Luna *et al.*, 2016) y el mejoramiento de la disponibilidad de hidrocarburos aromáticos policíclicos en el suelo (Gao, 2017).

La glomalina almacena carbono tanto en su proteína como en subunidades de carbohidratos (glucosa) e impregna la materia orgánica, uniéndola a las partículas de limo, arena y arcilla, lo que es uno de los principales factores en la formación de los agregados del suelo, haciendo de ésta una característica de los HMA que se correlacionan con el incremento del secuestro de C y N (Bender *et al.*, 2014; Lazcano *et al.*, 2014) y por ende, su importancia en procesos relacionados a la mitigación del cambio climático (Cheng *et al.*, 2012).

Las PSRG se pueden diferenciar en distintos términos aplicados a fracciones orgánicas del suelo: glomalina fácilmente extraíble (GFE), la cual se considera como la glomalina sintetizada más recientemente y es la fracción más lábil que se encuentra débilmente unida a las partículas del suelo; la glomalina difícilmente extraíble (GDE), fracción más recalcitrante de la glicoproteína en el suelo, que es difícil de extraer y se origina de la transformación de la GFE, y la glomalina total (GT), que es la suma de la GDE y GFE (Seguel *et al.*, 2008; Zou *et al.*, 2016).

Por otro lado, dado que la agricultura contemporánea está enfocada a estimular el crecimiento de las plantas y la producción agrícola mediante prácticas sustentables, principalmente limitando el uso de fertilizantes artificiales y pesticidas sintéticos, el uso de biofertilizantes representa una opción viable, sobre todo en cultivos de alto valor agregado como el café. Utilizando microorganismos como los HMA y otros microorganismos que produzcan

o estimulen la generación de agentes cementantes, no sólo se favorece el crecimiento de la planta y la producción, sino también se mejora la fertilidad y la calidad del suelo, se favorece la captación de C y N en el suelo y se incrementa la resistencia a plagas y enfermedades (Bertolini *et al.*, 2018). Así, además de la ventaja de incorporar un HMA para la estabilidad de agregados por medio de la exudación de glomalina, algunas bacterias también juegan un papel primordial en la formación de los agregados por la liberación de sustancias hidrofóbicas como ceras y grasas, las cuales conectan las partículas de suelo y mejoran la estabilidad de los agregados del suelo (Al-Zabee y Al-Maliki, 2019).

Es por lo anterior, que el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el impacto a corto plazo de la aplicación de *Glomus intraradices* y *Azospirillum brasilense* (Micorrizafer y Azofer, Biofábrica Siglo XXI®, respectivamente) como biofertilizantes sobre el contenido de glomalina en un cafetal de Martínez de la Torre, Veracruz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Establecimiento del experimento en campo. Las parcelas de análisis están ubicadas en el municipio de Emiliano Zapata, Veracruz (Figura 1). Para elegir los sitios de muestreo, se estableció que fueran parcelas donde se han aplicado biofertilizantes y se cultiva café, uno de los principales cultivos de interés económico en el país. En cada parcela se identificó paralelamente una con similares características y manejo agronómico, pero sin biofertilizantes como testigo. Los biofertilizantes se aplican 2 veces en vivero durante la germinación de las semillas, para posteriormente volverlo a aplicar en campo, donde se aplican un mes después de la siembra en la pata de la planta, para posteriormente aplicar en la temporada de lluvia, que es cuando crece el grano (aproximadamente en el mes de julio), a una concentración de 5×10^{11} UFC de *A. brasilense* y 9×10^4 esporas de *Glomus intraradices*. En la zona testigo se siguió



el mismo manejo agronómico pero sin aplicación de biofertilizantes. Se dan de dos a tres abonadas químicas al año, en temporada de lluvias (enero, mayo y junio) con Triple 16 y NPK 17:7:14. La densidad de plantas es de 5,000

plantas/ha, mientras que el sombreado en la finca es del 40% con árboles de chalahuitte, palo mulato, cedro y caoba. Ambas zonas fueron de café Arábico de las variedades Sarchimor y Catimor.

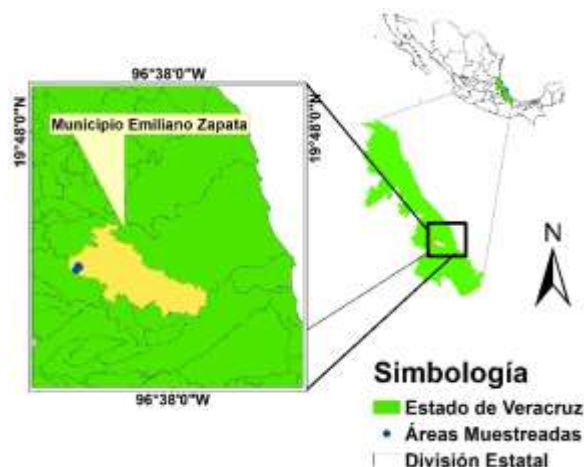


Figura 1. Ubicación de las parcelas de café de análisis en el Municipio de Emiliano Zapata, Veracruz.

Muestreo y preparación de la muestra. Se establecieron sistemáticamente 4 parcelas de 10x4 m en las huertas. En cada parcela se tomaron 12 muestras de suelo rizoférico a 50 cm del tallo y a una profundidad de 0-20 cm. Las muestras fueron identificadas y colocadas en bolsas de plástico, almacenadas a 4°C hasta su análisis. El suelo fue secado al aire, las raíces y otros residuos visibles de plantas fueron removidos y tamizadas directamente a 2 mm de tamaño de partícula antes del análisis. Del suelo colectado se elaboró una muestra compuesta para los análisis.

Análisis de glomalina. El contenido de glomalina se determinó con el método descrito por Wright y Upadhyaya (1998) modificado por Luna y col. (2016) en donde se cuantificó la glomalina producida recientemente como GFE, así como la GT.

Primero se extrajo la GT del suelo, utilizando 1 g de suelo al cual se le añadieron 8 mL de citrato de sodio 50 mM pH 8.0 como extractante y se colocó la mezcla en el autoclave a 121 °C por 60 min. Después, se dejó enfriar el tubo y se

centrifugó a 5,000 x g por 20 min. En caso de que el sobrenadante presentara un color pardo-rojizo, éste fue decantado en un matraz volumétrico (que se mantuvo a 4 °C) y se repitió el mismo proceso hasta que la coloración del extracto desapareciera. Finalmente se juntaron todos los extractos y se llevó a un volumen exacto con citrato de sodio. La cuantificación de proteínas totales se realizó por el método de Bradford utilizando albúmina sérica bovina como estándar (Bradford, 1976) leyendo espectrofotométricamente a 595 nm. Las concentraciones de glomalina fueron expresadas como mg g⁻¹ de suelo.

Por otro lado, la GFE se obtuvo de 1 g de suelo al cual se le añadieron 8 mL de citrato de sodio 20 mM pH 7.0 y se realizó una sola extracción autoclavando a 121 °C por 30 min. Al igual que la TG, se cuantificó el contenido de proteínas totales por el método de Bradford.

Determinación del C del suelo. La cuantificación del C total se determinó por combustión con el analizador elemental LECO. De acuerdo con Rillig *et al.* (2003), el contenido de C-glomalínico

(C-G) es entre 27.9 ± 3.3 ($n=8$) y 43.1 ± 1.4 ($n=8$) % de la masa de la glomalina, dependiendo de la metodología empleada para la extracción y el origen del suelo, por lo que en el presente estudio se consideró el valor del 40%, porcentaje dentro del rango sugerido por otros autores (Rillig et al., 2003; Borie et al., 2006)

Análisis estadístico. Se realizó una prueba de normalidad de Shapiro-Wilk (<50 datos) y homogeneidad de varianza a cada conjunto de datos y, posteriormente, los parámetros no normales se convirtieron para realizar una prueba t-Student para muestras independientes al 95% de confianza, utilizando el programa IBM SPSS Statistics 25 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Tabla 1. Efecto de la aplicación de *G. intraradices* y *A. brasilense* sobre la concentración de glomalina en el agroecosistema de estudio en el estado de Veracruz, México.

Tratamiento	Cs, mg g ⁻¹	GT, mg g ⁻¹	C-G, mg g ⁻¹	C-G/Cs, %
Biofertilizante	18.23 ^a	1.49 ^a	0.60 ^a	3.27 ^a
Testigo	20.47 ^a	1.12 ^b	0.45 ^b	2.19 ^b

Los valores en las columnas que presentan diferentes letras difieren significativamente entre tratamientos ($P \leq 0.05$) de acuerdo con la prueba t-student al 95% de confianza.

En cuanto a la cantidad de GFE, también fue mayor cuando se aplicaron los biofertilizantes en el cultivo (Figura 2) en comparación a la zona testigo con manejo convencional.

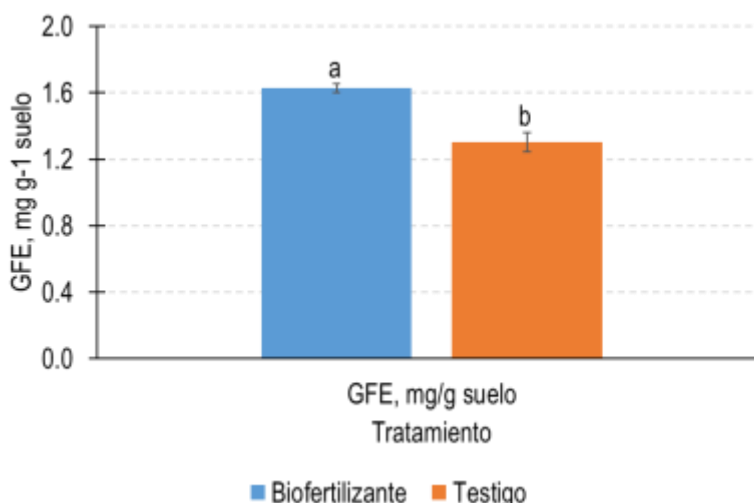


Figura 2. Contenido de glomalina fácilmente extraíble en las zonas de estudio con y sin aplicación de biofertilizantes. Los valores en las columnas que presentan diferentes letras difieren significativamente entre tratamientos ($P \leq 0.05$) de acuerdo con la prueba t-student al 95% de confianza.

DISCUSIÓN

La concentración de PSRG se ha reportado por encima de 1 mg g^{-1} de suelo (Zou *et al.*, 2016), valores que concuerdan con los resultados obtenidos.

El incremento de glomalina en la zona con aplicación de biofertilizantes coincide con lo reportado por otros autores (Koide y Peoples, 2013; Wu *et al.*, 2015). De acuerdo con estas investigaciones, los biofertilizantes incrementan la cantidad de PSRG, ya que la micorrización de los suelos rizosféricos permite incrementar las tres formas de glomalina (GFE, GDE y GT). En este sentido, el emplear un HMA como *G. intraradices* a manera de biofertilizante, favorece la proliferación de este microorganismo directamente y, consecuentemente, una mayor producción de PSRG. Cabe mencionar, que se ha reportado que algunas especies de *Azospirillum* pueden mejorar la agregación del suelo (El-Ghany *et al.*, 1997; Bashan *et al.*, 2004).

Al-Zabee y Al-Maliki (2019), encontraron un incremento en la estabilidad de los agregados cuando se utilizaron distintos microorganismos como biofertilizantes (*Glomus mosseae*, *Ascomyllum nodosum*, *Saccharomyces cerevisiae*, solos o en combinaciones, encontrando un mayor efecto en la mezcla de hongos micorrízicos con levaduras, lo que refleja la sinergia entre ambos microorganismos, ya que además de la glomalina producida por el HMA, la levadura presenta ciertas características como el contenido alto de aminoácidos y nutrientes que estimulan a los organismos a ser más activos en la rizósfera y su papel para incrementar la tasa de infección micorrízica y promover la rizodeposición, cuyos exudados actúan también como agentes cementantes en los agregados del suelo. Aunque aún no se conocen bien los mecanismos con los que la co-inoculación de diferentes microorganismos favorecen el crecimiento de las plantas, parece que el

sinergismo permite a la planta alcanzar una nutrición más balanceada y el incremento de la absorción de nutrientes. Así, la aplicación conjunta de un HMA y una bacteria fijadora de nitrógeno parece no solo favorecer el crecimiento de la planta y el desarrollo de sus raíces (lo que incrementa la exudación de polímeros de las plantas que mejoran la calidad del suelo e incrementan la estabilidad de los agregados del suelo), sino que también interactúan sinérgicamente con los microorganismos nativos, algunos de los cuales pudieran ser otros HMA productores de glomalina, además de incrementar la colonización de ambos microorganismos (Miyachi *et al.*, 2008; Carrizo de Bellone, 2012). Además, se ha demostrado una interacción sinérgica entre HMA y *Azospirillum*, directamente por proveer un hábitat o, indirectamente mediante la modificación de la morfo-fisiología de la planta hospedera; ambos mecanismos son benéficos para los dos microorganismos y la planta (Domínguez-Núñez *et al.*, 2015).

Dado que la concentración de PSRG y la distribución de sus fracciones es fuertemente afectada por las prácticas de manejo agronómico, el tiempo y el movimiento (Steinberg y Rillig, 2013; Zou *et al.*, 2016), la aplicación de *G. intraradices* y *A. brasilense* parece favorecer la micorrización y la estabilidad de los agregados en corto plazo; no obstante, es necesario realizar estudios posteriores para ver la evolución de dicho efecto a través del tiempo.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue financiado por la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) dentro del proyecto titulado "Impacto de la Aplicación de Biofertilizantes en el Secuestro de Carbono y el Estado de la Materia Orgánica del Suelo".

LITERATURA CITADA

Bashan Y., Holgun G. y de-Bashan L.E. 2004. *Azospirillum*-plant relationships: physiological, molecular, agricultural,



- and environmental advances (1997–2003). *Canadian Journal of Microbiology*. 50:521–577.
- Bertolini V., Montaña N.M., Chimal Sánchez E., Varela Fregoso L., Gómez Ruiz J. y Martínez Vázquez J.M. 2018. Abundance and richness of arbuscular mycorrhizal fungi in coffee plantations from Soconusco, Chiapas, Mexico. *Revista de Biología Tropical*. 66(1):91-105.
- Borie F., Rubio R., Rouanet J.L., Morales A., Borie G. y Rojas, C. 2006. Effects of tillage systems on soil characteristics, glomalin and mycorrhizal propagules in a Chilean Ultisol. *Soil and Tillage Research*, 88(1-2):253-261.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72(1-2):248-254.
- Chanclud E. y Morel J.B. 2016. Plant hormones: A fungal point of view. *Molecular Plant Pathology*. 17(8):1289–1297.
- Dai J., Hu J., Zhu A. y Lin, X. 2017. No-tillage with half-amount residue retention enhances microbial functional diversity, enzyme activity and glomalin-related soil protein content within soil aggregates. *Soil Use and Management*. 33(1):153-162.
- Domínguez-Núñez J.A., Berrocal-Lobo M. y Albanesi A.S. 2015. Interaction of *Azospirillum* and mycorrhiza. In Dario F.C., Okon, Y., Creus, C. M. (eds.). *Handbook for Azospirillum*. Springer International Publishing. Switzerland. 419-432 p.
- El-Ghany B.F.A., Khalil K.W., El-Sersawy M.M. y Awadalla, S.Y. 1997. Improvement of Wadi Sudr soil properties using modern bio-organic techniques and their effects on desertification combat and barley production. *The Desert Institute Bulletin*. 47:69–100
- Gao Y., Zhou Z., Ling W., Hu X. y Chen, S. 2017. Glomalin-related soil protein enhances the availability of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 107:129-132.
- Heredia G. y Arias, R.M. 2008. Hongos saprobios y endomicorrizógenos en suelos. In Manson R.H., Hernández-Ortiz V., Gallina S. y Mehlreter K. (eds.). *Agroecosistemas cafetaleros de Veracruz: biodiversidad, manejo y conservación*. Instituto de Ecología A.C. (INECOL) e Instituto Nacional de Ecología (INE-SEMARNAT). Jalapa, México. 193-212 pp.
- Ji L., Tan W. y Chen, X. 2019. Arbuscular mycorrhizal mycelial networks and glomalin-related soil protein increase soil aggregation in Calcaric Regosol under well-watered and drought stress conditions. *Soil and Tillage Research*. 185:1-8.
- Koide R.T. y Peoples, M.S. 2013. Behavior of Bradford-reactive substances is consistent with predictions for glomalin. *Applied Soil Ecology*. 63:8-14.
- Luna L., Miralles I., Andrenelli M.C., Gisbert M., Pellegrini S., Vignozzi N. y Solé-Benet, A. 2016. Restoration techniques affect soil organic carbon, glomalin and aggregate stability in degraded soils of a semiarid Mediterranean region. *Catena*. 143:256-264.
- Miransari M. 2011. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 89(4):917–930.
- Miyauchi M.Y.H., Lima D.S., Nogueira M.A., Lovato G.M., Murate L.S., Cruz M.F.,



- Ferreira J.M., Zangaro W. y Andrade G. 2008 Interactions between diazotrophic bacteria and mycorrhizal fungus in maize genotypes. *Scientia Agricola*. 65(5):525–531.
- Posada R.H., Sánchez de Prager M., Heredia G. y Sieverding, E. 2016. Effects of soil physical and chemical parameters, and farm management practices on arbuscular mycorrhizal fungi communities and diversities in coffee plantations in Colombia and Mexico. *Agroforestry Systems*. 92(2):555-574.
- Rillig M.C. 2004. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. *Canadian Journal of Soil Science*. 84(4):355–363.
- Rillig M.C., Ramsey P.W., Morris S. y Paul, E. A. 2003. Glomalin, an arbuscular-mycorrhizal fungal soil protein, responds to land-use change. *Plant and Soil*, 253(2):293-299.
- Rillig M.C., Wright S.F., Allen M.F. y Field C.B. 1999. Rise in carbon dioxide changes soil structure. *Nature*. 400 (6745):628.
- Seguel A., Rubio R., Carrillo R., Espinosa A. y Borie, F. 2008. Niveles de glomalina y su relación con características químicas y biológicas del suelo (andisol) en un relicto de bosque nativo del sur de Chile. *Bosque (Valdivia)*. 9:11-22.
- SHCP (Secretaría de Hacienda y Crédito Público). 2014. *Panorama del café*. <http://www.financiarural.gob.mx/informacionsectorrural/Panoramas/Ficha%20Caf%C3%A9.pdf>. Fecha de consulta: 20 de enero de 2018.
- Singh P.K., Singh M. y Tripathi, B.N. 2013. Glomalin: an arbuscular mycorrhizal fungal soil protein. *Protoplasma*. 250(3):663-669.
- Smith S.E., Jakobsen I., Grønlund M. y Smith F.A. 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus nutrition: interactions between pathways of phosphorus uptake in arbuscular mycorrhizal roots have important implications for understanding and manipulating plant phosphorus acquisition. *Plant Physiology*. 156(3):1050–1057.
- Statista. 2019. Coffe Mexico. <https://www.statista.com/outlook/30010000/116/coffee/mexico>. Fecha de consulta: 01 de noviembre de 2019.
- Wright S. y Upadhyaya A. 1998. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycol-protein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*. 198:97- 107.
- Wright S.F. y Jawson L. 2001. A pressure cooker method to extract glomalin from soils. *Soil Science Society of America Journal*. 65(6):1734-1735.
- Wright S.F. y Upadhyaya A. 1996. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein from arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Science*. 161:575– 586.
- Wu Q.S., Li Y., Zou Y.N. y He, X.H. 2015. Arbuscular mycorrhiza mediates glomalin-related soil protein production and soil enzyme activities in the rhizosphere of trifoliate orange grown under different P levels. *Mycorrhiza*. 25(2):121-130.
- Wu Q.S., Wang S. y Srivastava, A.K. 2016. Mycorrhizal hyphal disruption induces changes in plant growth, glomalin-related soil protein and soil aggregation of trifoliate orange in a core system. *Soil and Tillage Research*. 160:82-91.

Yang Y., He C., Huang L., Ban Y. y Tang, M.
2017. The effects of arbuscular
mycorrhizal fungi on glomalin-related soil
protein distribution, aggregate stability
and their relationships with soil
properties at different soil depths in lead-
zinc contaminated area. PloS one. 12(8),
e0182264.

Zou Y.N., Srivastava A.K. y Wu Q.S. 2016.
Glomalin: a potential soil conditioner for
perennial fruits. International Journal of
Agriculture and Biology. 18:293-297.