

Mycorrhizal colonization and species of arbuscular mycorrhizal fungi in grasses from the Cuenca Pecuaria “El Tablón”, Cienfuegos, Cuba

Colonización micorrízica y especies de hongos micorrizógenos arbusculares en gramíneas de la cuenca pecuaria “El Tablón”, Cienfuegos, Cuba

E. Furrázola¹, L. Ojeda² and Consuelo Hernández³

¹Instituto de Ecología y Sistemática. Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente. Carretera Varona 11835 e/ Oriente y Lindero, La Habana 19, CP 11900, Calabazar, Boyeros, La Habana, Cuba

²CUM Cumanayagua, Universidad de Cienfuegos “Carlos R. Rodríguez”

³Estación Experimental de Suelos y Fertilizantes “Escambray”. Barajagua, Cienfuegos, Cuba.

Email: eduardof@ecologia.cu

The presence of arbuscular mycorrhizae and communities of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) associated to four grasses established in areas of livestock basin “El Tablón”, belonging to the Estación Experimental “Escambray”, Cumanayagua municipality, Cienfuegos province, was determined. *Megathyrsus maximus* cv. Likoni, *Pennisetum purpureum* cv. king grass, *Brachiaria decumbens* cv. CIAT-606 and *Cynodon nlemfuensis* cv. Jamaicano grasses were evaluated. A random block design was applied, with four treatments and 15 repetitions. All species showed arbuscular mycorrhizal colonization. The highest value was obtained in *Brachiaria decumbens* cv. CIAT-606, with 66.27%, while the rootlets of *Pennisetum purpureum* cv. king grass showed the lowest levels of this variable, with 48.80%. Eight species and five morphotypes of AMF, belonging to eight genera, were observed. The highest density of mycorrhizal fungi spores was associated with *Pennisetum purpureum* cv. king grass, with 3399 spores/100 g of soil, while the lowest corresponded to *Brachiaria decumbens* cv. CIAT-606, with only 195 spores/100 g. Arbuscular mycorrhizal fungi communities were more populated by species belonging to *Glomus* genus in the four studied pastures.

Key words: *pastures, arbuscular mycorrhizae, spore density, morphotype*

Se determinó la presencia de micorrizas arbusculares y de comunidades de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) asociadas a cuatro pasturas establecidas en áreas de la cuenca pecuaria “El Tablón”, perteneciente a la Estación Experimental “Escambray”, municipio de Cumanayagua, provincia de Cienfuegos. Se evaluaron las gramíneas *Megathyrsus maximus* cv. Likoni, *Pennisetum purpureum* cv. king grass, *Brachiaria decumbens* cv. CIAT-606 y *Cynodon nlemfuensis* cv. Jamaicano. Se aplicó diseño de bloques al azar, con cuatro tratamientos y 15 repeticiones. Todas las especies mostraron colonización micorrízica arbuscular. El mayor valor se obtuvo en *Brachiaria decumbens* cv. CIAT-606, con 66.27 %, mientras que las raicillas de *Pennisetum purpureum* cv. king grass mostraron los menores índices de esta variable, con 48.80 %. Se observaron ocho especies y cinco morfotipos de HMA, pertenecientes a ocho géneros. La mayor densidad de esporas de hongos micorrizógenos estuvo asociada a *Pennisetum purpureum* cv. king grass, con 3399 esporas/100 g de suelo, mientras la más baja correspondió a *Brachiaria decumbens* cv. CIAT-606, con solo 195 esporas/100 g. Las comunidades de hongos MA estuvieron dominadas por especies pertenecientes al género *Glomus* en las cuatro pasturas estudiadas.

Palabras clave: *pasturas, micorrizas arbusculares, densidad de esporas, morfotipos*

Introduction

Arbuscular mycorrhizae are an important biological factor for the structure and functioning of soils and influence on the ecological performance, productivity and composition of natural plant communities (van der Heijden *et al.* 1998) and crops and forest plantations. Fungi forming arbuscular mycorrhizae should be considered as part of the biological diversity of soils and should be included on inventories and biodiversity analyzes at ecosystem and agro-ecosystem level.

As root symbionts, arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are essential components of soil microbial communities, improve its structure, (Piotrowski *et al.* 2004) help raise the plant productivity (Lekberg & Koide 2005), increase resistance to pathogens (Sikes *et al.* 2009), and improve water amounts in soil (Neumann & George 2004). These fungi

Introducción

Las micorrizas arbusculares constituyen un factor biológico importante para la estructura y funcionamiento de los suelos e inciden en el comportamiento ecológico, productividad y composición de las comunidades vegetales naturales (van der Heijden *et al.* 1998) y de los cultivos agrícolas y plantaciones forestales. Los hongos formadores de micorrizas arbusculares se deben considerar entonces parte de la diversidad biológica de los suelos y se deben incluir en los inventarios y en los análisis de la biodiversidad a nivel de ecosistemas y agroecosistemas.

Como simbioses de las raíces, los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) resultan componentes esenciales de las comunidades microbianas del suelo, mejoran su estructura, (Piotrowski *et al.* 2004) contribuyen a elevar la productividad de las plantas (Lekberg & Koide 2005), incrementan la resistencia a

facilitate nutrient uptake and stress tolerance, help the formation of stable aggregates of soil and improve dynamic phosphorus and carbon in the rhizosphere.

Sustainable production of pastures in the tropics is limited by the fragility of soils, which undergo several forms of degradation. Making a better use of these beneficial symbionts may contribute to the increase of sustainability (Pérez *et al.* 2011). For this purpose, Velez & Sanchez (2015) developed an experiment that combined chemical fertilizers, green manures (*Canavalia ensiformis* L. and *Axonopus scoparius* F.), compost and mixture of the latter two in growing white corn to check the performance of mycorrhizae under these conditions. These authors confirmed the highest length, external mycelium activity and percentage of colonization per arbuscules the root system of maize with the addition of green manures mixed with compost, which were inhibited by industrial chemical fertilization.

In a study conducted in Brazil, to evaluate the association between AM fungi and four native grasses (*Axonopus affinis*, *Paspalum notatum*, *Andropogon lateralis* and *Aristida laevis*) under phosphate and nitrogen fertilization, Ramos (2014) concluded that the *A. laevis* and *A. lateralis* species showed the highest mycorrhizal dependence, while both fertilizations reduced the percentage of mycorrhizal colonization of the least dependent species of mycorrhizae (*A. affinis* and *P. notatum*). The number of spores in the soil was not affected by the addition of N and P.

In Cuba, there have been several efforts to demonstrate the positive effect of AMF inoculation on nutrition and productivity of grasses and forage crops (González *et al.* 2006, Calderón & González 2007). Therefore, it is important to know which AMF species are naturally associated with our grass species. However, there are few studies of AM fungi diversity related to grasses, under the geographical conditions of Cuba.

Monroy *et al.* (2013) determined that there are 26 morphotypes of AM fungi, in a study with *Brachiaria brizantha* cv. Toledo, *B. dictyoneura* cv. Plainsman, *Desmodium ovalifolium* cv. Maquenque, *Panicum maximum* (CIAT 36000) and *Paspalum notatum* as cover of grasses and legumes established in oxisol soils burrowing foot mountain in citrus orchards in Villavicencio, Colombia.

In Cuba, the prospective studies of these fungi are limited to few ecosystems such as tropical forests (Rodríguez *et al.* 2014), white sand savannas (Ferrer & Herrera 1980) and agro-ecosystems (Medina *et al.* 2010).

The objective of this study was to define the presence of arbuscular mycorrhizal colonization and species of these fungi, associated with *Megathyrsus maximus* cv. Likoni, *Pennisetum purpureum* cv. king grass,

los patógenos (Sikes *et al.* 2009), a la vez que mejoran las relaciones del agua en el suelo (Neumann & George 2004). Estos hongos facilitan la captación de nutrientes y la tolerancia al estrés, ayudan a la formación de agregados estables del suelo y mejoran la dinámica del fósforo y el carbono en la rizosfera.

La producción sostenible de pasturas en los trópicos está limitada por la fragilidad de los suelos, que están sujetos a diversas formas de degradación. Hacer mejor uso de estos simbiontes beneficiosos puede contribuir a aumentar la sostenibilidad (Pérez *et al.* 2011). Con este propósito, Vélez & Sánchez (2015), desarrollaron un experimento en el que combinaron fertilización química, abonos verdes (*Canavalia ensiformis* L. y *Axonopus scoparius* F.), compost y mezcla de estos dos últimos en el cultivo de maíz blanco para comprobar la expresión de las micorrizas arbusculares en estas condiciones. Estos autores constataron la mayor longitud, actividad del micelio externo y porcentaje de colonización por arbusculos en el sistema radical del maíz con la adición de abonos verdes en mezcla con compost, variables que se inhibieron por la fertilización química industrial.

En un estudio realizado en Brasil para evaluar la asociación entre los hongos MA y cuatro gramíneas nativas (*Axonopus affinis*, *Paspalum notatum*, *Andropogon lateralis* y *Aristida laevis*) bajo fertilización fosfórica y nitrogenada, Ramos (2014) concluyó que las especies *A. laevis* y *A. lateralis* mostraron la mayor dependencia micorrízica, mientras que ambas fertilizaciones redujeron el porcentaje de colonización micorrízica de las especies menos dependientes de la micorrización, *A. affinis* y *P. notatum*. El número de esporas en el suelo no se afectó por la adición de N y P.

En Cuba se han realizado diversos esfuerzos para demostrar el efecto positivo de la inoculación de HMA en la nutrición y productividad de los pastos y cultivos forrajeros (González *et al.* 2006, Calderón & González 2007). De ahí que resulte importante conocer qué especies de HMA se hallan asociadas naturalmente a nuestras especies de pastos. Sin embargo, son escasos los estudios de diversidad de hongos MA relacionados con pastos en las condiciones geográficas de Cuba.

Monroy *et al.* (2013), en un estudio con *Brachiaria brizantha* cv. Toledo, *B. dictyoneura* cv. Llanero, *Desmodium ovalifolium* cv. Maquenque, *Panicum maximum* (CIAT 36000) y *Paspalum notatum* como cobertura de gramíneas y leguminosas establecidas en suelos oxisoles del pie de monte llanero en huertos de cítricos en Villavicencio, Colombia, determinaron que existen 26 morfotipos de hongos MA.

En Cuba, los estudios de prospección de estos hongos se limitan a pocos ecosistemas, como son los bosques tropicales (Rodríguez *et al.* 2014), sabanas de arenas blancas (Ferrer & Herrera 1980) y agroecosistemas (Medina *et al.* 2010).

El objetivo de este estudio fue definir la presencia de colonización micorrízica arbuscular y las especies

Brachiaria decumbens cv. CIAT-606 and *Cynodon nlemfuensis* cv. Jamaican. All with more than five years of establishment.

Materials and methods

This research was conducted at the Vaquería Laboratorio Número. 3 from the Estación Experimental “Escambray”, belonging to Empresa Pecuaria “El Tablón”, Cumanayagua municipality, Cienfuegos province. These facilities are located at 591.00- 260.00 N and 259.00- 250.00 E, in Barajagua cartographic sheet 1: 25 000. The soil is grey brown (Hernández *et al.* 2015). Table 1 shows some components of soil fertility

The study was conducted with a random block design, with four treatments (grass species), 15 replicates (samples) and the following grasses:

1. *Megathyrsus maximuss* cv. Likoni
2. *Pennisetum purpureum* cv. king grass
3. *Brachiaria decumben* cv. CIAT-606
4. *Cynodon nlemfuensis* cv. jamaicano

Samplings were always conducted in June. The areas containing these species were covered diagonally. An amount of 15 samples were taken from the rhizosphere, in an area of 1 m² and paddocks of 0.5 ha.

In order to quantify mycorrhizal variables, samples of rootlets were extracted from each species. Therefore, root systems and rhizospheric soil, associated to a depth of 0-10 cm, were collected. They were dried at the air and they were stored in plastic bags until their processing in the laboratory. Rootlets with less than 2 mm of diameter were washed and cut at around 1 cm. they were dyed with trypan blue, according to the method of Phillips & Hayman (1970).

The percentage of arbuscular mycorrhizal colonization (% MC) was calculated according to the methodology of Giovannetti & Mosse (1980). This procedure consisted on distributing 1.5 g of dyed roots at random over a Petri dish of 8 cm of diameter. The bottom of the dish showed a drawing of a reticule of squares of 0.5 inches (1.27cm). An amount of 100 intersections of roots with lines of this reticule were counted. An amount of 100 intersections with this reticule lines were counted. In each Petri dish, the count was carried out in three parallel lines. The observed presence of AMF at each intersection represented the mycorrhizal colonization of the root. The intensity of fungal occupation was expressed as percentage of visual density (%VD) and was calculated according to the methodology of Herrera *et al.* (2004). The scale for assessing the percentage of VD was:

de estos hongos, asociadas a las pasturas *Megathyrsus maximuss*, vc. Likoni, *Pennisetum purpureum* vc. king grass, *Brachiaria decumbens* cv. CIAT-606 y *Cynodon nlemfuensis* cv. Jamaicano. Todas con más de cinco años de establecimiento.

Materiales y Métodos

La investigación se realizó en la Vaquería Laboratorio Número. 3 de la Estación Experimental “Escambray”, perteneciente a la Empresa Pecuaria “El Tablón”, municipio de Cumanayagua, provincia de Cienfuegos. Esta instalación se encuentra ubicada en las coordenadas N: 591,00- 260,00 y E: 259,00- 250,00, en la hoja cartográfica Barajagua 1: 25 000. El suelo es pardo grisáceo (Hernández *et al.* 2015). La tabla 1 muestra algunos de los componentes de la fertilidad del suelo.

Table 1. Components of soil fertility

pH	P ₂ O ₅ , mg/100 g	K ₂ O, mg/100 g	OM, %	Ca, mg/100g	Mg, mg/100g
5.16	3.8	8.2	1.37	5.2	1.4

El estudio se condujo mediante un diseño de bloques al azar, con cuatro tratamientos (especies de pastos), 15 réplicas (muestras) y las siguientes pasturas:

1. *Megathyrsus maximuss* vc. Likoni
2. *Pennisetum purpureum* vc. king grass
3. *Brachiaria decumben* vc. CIAT-606
4. *Cynodon nlemfuensis* vc. jamaicano

Los muestreos se llevaron a cabo siempre en junio. Se recorrieron las áreas cubiertas por estas especies en forma de diagonal. Se tomaron 15 muestras de la rizosfera en un marco de 1 m², en cuarteles de 0.5 ha.

Para cuantificar las variables micorrízicas, se extrajeron muestras de raicillas por cada especie. Se colectaron para ello los sistemas radicales y el suelo rizosférico asociado a profundidad de 0-10 cm. Se secaron al aire y se almacenaron en bolsas plásticas hasta su procesamiento en el laboratorio. Las raicillas menores de 2 mm de diámetro se lavaron y se cortaron a una longitud aproximada de 1cm. Se tiñeron con azul de tripán, según el método de Phillips & Hayman (1970).

El porcentaje de colonización micorrízica arbuscular (% CM) se calculó de acuerdo con la metodología de Giovannetti & Mosse (1980). El procedimiento consistió en distribuir al azar 1.5 g de raíces teñidas sobre una placa Petri de 8 cm de diámetro, en cuyo fondo se dibujó un retículo de cuadros de 0.5 pulgadas (1.27cm). Se contaron 100 intersecciones de raíces con las líneas de este retículo. La placa Petri se recorrió tres veces para cada muestra mediante desplazamientos en líneas rectas paralelas. La presencia de HMA en cada intersección observada representó la colonización micorrízica de la raíz. La intensidad de ocupación fúngica se expresó como porcentaje de densidad visual (% DV) y se calculó según la metodología de Herrera *et al.* (2004). La escala para valorar el porcentaje de DV fue la siguiente:

zero: absence of AMF
 one: 1 % of visual density
 two: 2.5 %
 three: 15.5 %
 four: 35.5 %
 five: 47.5 %

For identifying the associated AMF grass species, 100 grams of soil were taken in each species and mixed with typical soil of the area, which was previously sterilized in an autoclave at 1.5 atmospheres for one hour. Sorghum forage, as indicator crop (trap plants) was sown in pots of 1 kg. Irrigation stopped at four months and the plants were slowly dried for fifteen days. Spores associated with these pastures were quantified using the method of wet sieving and decanting (Gerdemann & Nicolson 1963).

Morphological characters of pasture and structure of its walls were analyzed by mounting on slides with polyvinylalcohol/lactic acid/glycerol (PVLG) and its mixture with reagent of Melzer (1:1, v/v). They were studied with a CARL ZEISS-AXIOSKOP 2 microscope using the technique of Differential Interference Contrast (DIC).

Taxonomic descriptions were performed according to Błaszowski (2012) and consultation of the specimens was conducted in the Herbarium of the Academy of Sciences, located at the IES-CITMA, where there are more than 3,000 samples of glomeromycetes fungi and a collection of 24,000 images. The results were analyzed by ANOVA of simple classification. When F was significant, the measures were compared according to the multiple range test of Duncan (1955).

Results and Discussion

All samples of rootlets showed features belonging to the presence of mycorrhizal fungi, being arbuscular or vesicles, typical of this symbiotic association. The two main types of arbuscular mycorrhizal colonization were the Arum-type and Paris-type, illustrated and described by Gallaud (1904). These names correspond to the plants where they were observed for the first time: *Arum maculatum* L. and *Paris quadrifolia* L., respectively (Dickson *et al.*, 2007). It is considered that these two types represent the extremes of a structural continuum that characterizes the internal morphology of this association. The type of mycorrhization observed in this study corresponded to the Arum type, which predominates in cultivated species, although, according to the cited authors, both types of mycorrhizal colonization can be observed in grasses.

The highest value of mycorrhizal colonization was found in the *Brachiaria decumbens* cv. CIAT-606 species, which statistically differed from the rest of the tested species, while *Pennisetum purpureum* cv. king grass had the lowest percentage of rootlets colonized

cero: ausencia de HMA
 uno: 1 % de densidad visual
 dos: 2.5 %
 tres: 15.5 %
 cuatro: 35.5 %
 cinco: 47.5 %

Para la identificación de los HMA asociados a las especies de pastos, se tomaron 100 gramos de suelo en cada especie y se mezclaron con el suelo típico del área, previamente esterilizado en autoclave a 1.5 atmósferas durante una hora. Se sembró sorgo forrajero, como cultivo indicador (plantas trampas) en macetas de 1 kg de capacidad. El riego se detuvo a los cuatro meses y las plantas se dejaron secar lentamente durante quince días. Las esporas asociadas a estas pasturas se cuantificaron por el método de wet sieving and decanting (Gerdemann & Nicolson 1963).

Los caracteres morfológicos de las pasturas y la estructura de sus paredes se analizaron mediante su montaje en portaobjetos con polivinilalcohol/ácido láctico/glicerol (PVLG) y su mezcla con el reactivo de Melzer (1:1, v/v). Se estudiaron en un microscopio CARL ZEISS-AXIOSKOP 2 mediante la técnica de Contraste de Interferencia Diferencial (DIC, por sus siglas en inglés).

Las descripciones taxonómicas se realizaron de acuerdo con Błaszowski (2012) y la consulta de los ejemplares se realizó en el Herbario de la Academia de Ciencias, radicado en el IES-CITMA, donde existen más de 3 000 muestras de hongos glomeromicetos y una colección de 24 000 imágenes. Los resultados se analizaron por ANOVA de clasificación simple. Cuando F resultó significativa, las medidas se compararon según la prueba de rangos múltiples de Duncan (1955).

Resultados y Discusión

Todas las muestras de raicillas mostraron rasgos característicos de la presencia de hongos micorrizógenos, sean arbusculos o vesículas, típicos de esta asociación simbiótica. Los dos tipos principales de colonización micorrízica arbuscular fueron los Tipo-Arum y Tipo-Paris, ilustrados y descritos por Gallaud (1904). Estos nombres responden a las plantas donde se observaron por primera vez: *Arum maculatum* L. y *Paris quadrifolia* L., respectivamente (Dickson *et al.* 2007). Se considera que estos dos tipos representan los extremos de un continuum estructural que caracteriza la morfología interna de esta asociación. El tipo de micorrización observada en este estudio se correspondió con el tipo Arum, que predomina en especies cultivadas, si bien de acuerdo con los autores citados en las gramíneas se pueden observar ambos tipos de colonización micorrízica.

El mayor valor de colonización micorrízica estuvo en la especie *Brachiaria decumbens* vc. CIAT-606, que difirió estadísticamente del resto de las especies evaluadas, mientras que el *Pennisetum purpureum* vc king grass resultó la especie con el menor porcentaje de raicillas colonizadas por los HMA (tabla 2).

Table 2. Mycorrhizal colonization and visual density per AMF

N o.	Species	Colonization (%)	Visual Density (%)
1	<i>Megathyrsus maximus</i> cv. Likoni.	54.13 ^b	3.54 ^a
2	<i>Pennisetum purpureum</i> cv. king grass.	48.80 ^b	2.75 ^b
3	<i>Brachiaria decumbens</i> cv. CIAT-606.	66.27 ^a	3.58 ^a
4	<i>Cynodon nlemfuensis</i> cv. Jamaicano.	50.40 ^b	1.16 ^c
SE ± Sig		3.085**	0.508**

^{abc}Means with uncommon letters in each column differ significantly for $P < 0.05$ (Duncan 1955). () Original Data. ** $P < 0.01$

by the AMF (table 2).

The species *Brachiaria decumbens* cv. CIAT-606 also had the most visual density of the endophyte in their rootlets, no differences regarding *Megathyrsus maximus* cv. Likoni. Meanwhile, *Cynodon nlemfuensis* cv. Jamaicano presented the lowest values of this variable, significantly different from the rest of the evaluated species.

Arbuscular mycorrhizal colonization showed no common pattern on the different studied plant species, as it commonly happens in tropical and temperate ecosystems, because it is known that it depends essentially on the habit of the plant and on environmental conditions (Allen 2001).

According to this author, colonization percentage is a value derived from the growth of two independent organisms, which are different and each tries to maximize their own growth and survival. Therefore, the colonization of roots by AMF depends on two main factors. First, soil resources, essentially phosphorus and nitrogen related to the carbon obtained by the plant, and the mycorrhizal inoculum within the soil, due to its level, composition and distribution. Previous studies have demonstrated that levels of mycorrhizal colonization vary among genotypes of plants within the same species (Tawaraya 2003).

Mycorrhizal colonization values, superior to 50 % and observed in three out of four studied plant species, may be considered as high, according to criteria of Ferrer & Herrera (1980). Nevertheless, in general, these values were considered as moderate, according to criteria of Alarcón (2001), because these species grow under natural conditions in soils with low levels of phosphorus, organic matter and fertility, and it is known that, under these conditions of field, mycorrhizal propagules are not potentiated as well as when mycorrhizal inocula under controlled experimental conditions are used.

Similar values of mycorrhizal colonization, ranging between 42.5 and 60 %, were reported by Calderón & González (2007) for *M. maximus* (known before as *Panicum maximum* cv. Likoni), under field conditions during rainy period, in an experiment developed in Bauta, Artemisa province. Pérez & Vertel (2010), after evaluating *in situ* colonization of arbuscular mycorrhizae in roots of *Bothriochloa pertusa* (L.)

La especie *Brachiaria decumbens* cv. CIAT-606 fue igualmente la de mayor densidad visual del endófito en sus raicillas, sin diferencias con respecto a *Megathyrsus maximus* cv. Likoni. Mientras, *Cynodon nlemfuensis* cv. Jamaicano presentó los menores valores de esta variable, significativamente diferente del resto de las especies evaluadas.

La colonización micorrízica arbuscular no mostró un patrón común en las diferentes especies vegetales estudiadas, como sucede comúnmente en ecosistemas tropicales y en los templados, pues se conoce es esencialmente dependiente del hábito de la planta y de las condiciones ambientales (Allen 2001). Según este autor, el porcentaje de colonización es un valor derivado del crecimiento de dos organismos interdependientes, pero distintos a la vez, y cada uno pretende maximizar su propio crecimiento y supervivencia. Es así que la colonización de las raíces por los HMA depende de dos factores fundamentales: los recursos del suelo, esencialmente fósforo y nitrógeno en relación con el carbono obtenido por la planta y el inóculo micorrízico presente en el suelo, por su nivel como por su composición y distribución. Estudios anteriores han demostrado que los niveles de colonización micorrízica varían entre los genotipos de plantas dentro de las mismas especies (Tawaraya 2003).

Los valores de colonización micorrízica superiores a 50 %, observados en tres de las cuatro especies vegetales estudiadas se pueden considerar elevados, de acuerdo con los criterios de Ferrer & Herrera (1980). No obstante, por tratarse de especies que crecían en condiciones naturales en suelos con bajos niveles de fósforo, materia orgánica y fertilidad, en general se prefirió catalogar estos valores como moderados, según el criterio de Alarcón (2001), si bien se conoce que en estas condiciones de campo los propágulos micorrizógenos no se ven potenciados como cuando se emplean inóculos micorrízicos en condiciones experimentales controladas.

Similares valores de colonización micorrízica, que oscilaron entre 42.5 y 60 % informaron Calderón & González (2007) para *M. maximus* (antes *Panicum maximum* cv. Likoni) en condiciones de campo durante el período lluvioso, en un experimento desarrollado en Bauta, provincia de Artemisa. Pérez & Vertel (2010), al evaluar la colonización *in situ* de micorrizas arbusculares en raíces de *Bothriochloa pertusa* (L.) A. Camus (pasto Colosuana), en fincas ganaderas de la subregión

A. Camus (Colosuana grass) in cattle farms from the physiographical sub-region of Sabanas, Colombia, obtained values of mycorrhizal colonization between 40.1 and 59.4 %. Pérez (2009) studied the percentage of mycorrhizal colonization and the community of mycorrhizal fungi associated to grasslands dominated by *Panicum virgatum* L., *Agropyron cristatum* (L.) Gaertn., *Nassella viridula* Trin.) and *Pascopyrum smithii* (Rydb.) A. Löve at the southwest of Saskatchewan, Canada.

In this research, mycorrhizal colonization was evaluated as a result of the presence of thin and thick hyphae. The value of these last was slightly superior to 40 %, at up to 15 cm deep, while thin hyphae colonized around 30 % of rootlets. The values of visual density obtained in this study are slightly superior to those obtained by Fundora *et al.* (2011), Terry *et al.* (2013), who performed AMF inoculations with bio-products and/or chemical fertilization in sown grasses, which varied between 0.34 % and 2.39 %.

Regarding the presence of AMF species, there were eight species and five morphotypes of these fungi, belonging to eight genera: *Cetraspora*, *Claroideoglosum*, *Dentiscutata*, *Diversispora*, *Funneliformis*, *Glomus*, *Paraglosum* and *Racocetra* (tabla 3).

In a general sense, there were between four and six species associated to each studied pasture, with a predominance of species and morphotypes of *Glomus* genera (figure 1), although *Diversispora spurca* produced higher values of propagules in *Pennisetum purpureum*, Guinea. Likoni and *Cynodum nlemfuensis* cv. Jamaicano, with 2,033, 325 and 226 spores per 100 g, respectively. *Diversispora spurca* and *Claroideoglosum claroideum* were the most important species to be considered for further studies on inoculation, because they were associated to roots of 3 and 2 studied pastures, respectively.

On the other hand, *Pennisetum purpureum* cv. king grass reproduced the highest number of AMF spores associated to its rootlets, followed by *Megathyrsus maximus* cv. Likoni, *Cynodum nlemfuensis* cv. Jamaicano and *Brachiaria decumbens* cv. CIAT-606.

AMF are an important part of herbaceous agricultural systems (Sabais *et al.* 2012, Gibson-Roy *et al.* 2014). These fungi have equally been used in ecosystem re-vegetation programs, affected by anthropic, as in the case of degraded grasslands (Gao & Guo 2010).

Native communities of AM fungi, associated to grasslands, have been studied by Schnoor *et al.* (2010), and Busby *et al.* (2012). The first authors found 38 phylotypes, from which 29 belonged to *Glomus* A, six to *Glomus* B and six to *Diversisporaceae*. The second authors observed 32 species. They found, as in the present study, *Claroideoglosum claroideum*, *Diversispora spurca* and *Paraglosum occultum* species among them. This significant number of species is a result

fisiográfica de Sabanas, en Colombia, obtuvieron valores de colonización micorrízica entre 40.1 y 59.4 %. Pérez (2009) estudió el porcentaje de colonización micorrízica y la comunidad de hongos micorrizógenos asociados a pastizales dominados por *Panicum virgatum* L., *Agropyron cristatum* (L.) Gaertn., *Nassella viridula* Trin.) y *Pascopyrum smithii* (Rydb.) A. Löve en el suroeste de Saskatchewan, Canadá.

En esta investigación la colonización micorrízica se evaluó como resultado de la presencia de hifas finas y gruesas. El valor de estas últimas fue ligeramente superior a 40 %, a profundidad de hasta 15 cm, mientras que las hifas finas colonizaron, aproximadamente, 30 % de las raicillas.

Los valores de densidad visual obtenidos en este trabajo resultan ligeramente superiores a los obtenidos en un experimento de Fundora *et al.* (2011), Terry *et al.* (2013), quienes realizaron inoculaciones de HMA con bioproductos y/o fertilización química en gramíneas cultivadas, que variaron entre 0.34 % y 2.39 %.

Con respecto a la presencia de especies de HMA, se observaron ocho especies y cinco morfotipos de estos hongos pertenecientes a ocho géneros: *Cetraspora*, *Claroideoglosum*, *Dentiscutata*, *Diversispora*, *Funneliformis*, *Glomus*, *Paraglosum* y *Racocetra* (tabla 3).

De forma general se observaron de cuatro a seis especies asociadas a cada pastura estudiada, con predominio de especies y morfotipos del género *Glomus* (figura 1), si bien *Diversispora spurca* fue la especie fúngica que produjo los mayores valores de propágulos en *Pennisetum purpureum*, Guinea, Likoni y *Cynodum nlemfuensis* cv. Jamaicano, con 2033, 325 y 226 esporas por 100 g de suelo, respectivamente. *Diversispora spurca* y *Claroideoglosum claroideum* resultaron las especies más importantes a considerar en futuros trabajos de inoculación, al encontrarse asociadas a las raíces de 3 y 2 de las pasturas estudiadas, respectivamente.

Por su parte el *Pennisetum purpureum* cv. king grass fue la especie que mayor número de esporas de HMA reprodujo asociadas a sus raicillas. Le siguió *Megathyrsus maximus* cv. Likoni, *Cynodum nlemfuensis* cv. Jamaicano y *Brachiaria decumbens* cv. CIAT-606 en último lugar.

Los HMA constituyen parte importante de los sistemas agrícolas herbáceos (Sabais *et al.* 2012, Gibson-Roy *et al.* 2014). Estos hongos han sido igualmente empleados en programas de revegetación de ecosistemas afectados por la actividad antrópica, como es el caso de los pastizales degradados (Gao & Guo 2010).

Las comunidades nativas de hongos MA, asociadas a pastizales, han sido estudiadas en trabajos de Schnoor *et al.* (2010), Busby *et al.* (2012). Los primeros encontraron 38 filotipos, de los cuales 29 pertenecieron a *Glomus* A, seis a *Glomus* B y seis a *Diversisporaceae*. Los segundos observaron 32 especies. Entre ellas, al igual que en este estudio, se encontraron *Claroideoglosum claroideum*, *Diversispora spurca* y *Paraglosum occultum*. Este número significativo de especies obedece a que, además

Table 3. Species and/or morphotypes of AMF associated to species and spore population

Species	AM Fungi species	Spore density 100g/soil
<i>Megathyrsus maximuss</i> cv. Likoni	<i>Glomus sp.</i> 1 “Brown yellow”	28
	<i>Diversispora spurca</i> (C.M. Pfeiff., C. Walker & Bloss) C. Walker & A. Schüssler	325
	<i>Funneliformis geosporus</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & A. Schüssler	18
	<i>Glomus sp.</i> 2 “small reddish”	12
		383
<i>Pennisetum purpureum</i> cv. king grass.	<i>Claroideoglossomus claroideum</i> (N.C. Schenck & G.S. Sm.) C. Walker & A. Schüssler	1033
	<i>Diversispora spurca</i>	2033
	<i>Cetraspora pellucida</i> (T.H. Nicolson & N.C. Schenck) Oehl, F.A. Souza & Sieverd.	33
	<i>Glomus sp.</i> 3 “small orange”	300
		3399
<i>Brachiaria decumbens</i> cv. CIAT-606	<i>Dentiscutata heterogama</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) Sieverd., F.A. Souza & Oehl	7
	<i>Claroideoglossomus claroideum</i>	130
	<i>Paraglossomus occultum</i> (C. Walker) J.B. Morton & D. Redecker	24
	<i>Glomus sp.</i> 3 “small orange”	29
	<i>Glomus clavispurum</i> (Trappe) R.T. Almeida & N.C. Schenck	3
	<i>Racocetra fulgida</i> (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. Souza & Sieverd.	2
		195
<i>Cynodon nlemfuensis</i> cv. Jamaicano	<i>Glomus sp.</i> 4 “yellow”	60
	<i>Diversispora spurca</i>	226
	<i>Glomus sp.</i> 3 “small orange”	26
	<i>Glomus sp.</i> 5 “big red”	9
	321	

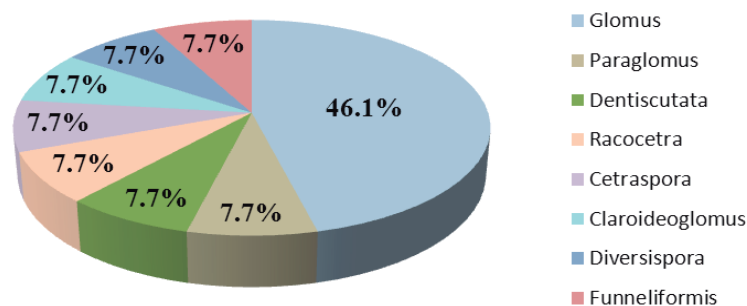


Figure 1. Distribution of AMF species per genus, associated to studied grass species

of, besides the traditional isolation techniques of spores from the soil (trap plants and direct counting of spores after centrifugation in sucrose gradient), molecular determinations conducted for fungal communities in roots and soil plus roots in both studies, respectively. Generally, the predominance of *Glomus* genus was confirmed in these studies, with a similar performance

de las técnicas tradicionales de aislamiento de esporas del suelo (plantas trampa y conteo directo de las esporas tras la centrifugación en gradiente de sacarosa), se realizaron determinaciones moleculares para el caso de las comunidades fúngicas en raíces y suelo más raíces en ambos estudios, respectivamente. Generalmente, en estas investigaciones se constató predominio del género *Glomus*,

to this study.

Lugo & Cabello (2002) found higher presence of Glomales order, among the 17 species analyzed in the rhizosphere of five grasses associated to mountain grasslands in Sierras de Córdoba. Results of this study coincide with reports of Schnoor *et al.* (2010), who determined 38 endophyte organisms of AM fungi, associated to *Festuca brevipila* and *Plantago lanceolata*, in an experiment for restoring grasslands in the western region of Scania, south of Sweden. From those organisms, 35 belonged to *Glomus* genus.

As in this study, species of *Glomus* genus are generally predominant in the communities of AM fungi in agricultural soils from Europe (Mathimaran *et al.* 2005). Among other reasons, this could be a result of a mechanism of the spores of this genus to repair those damages experienced by hyphae in fungal colonies of soil. According to the cited authors, this mechanism for repairing damages in hyphae varies among *Gigaspora*, *Scutellospora* and *Glomus* genera. In this last, this phenomenon increases the ability of fungus to colonize the roots of the host plant due to proliferation of new hyphae from the apex of the cut hypha. However, it could also reconnect the affected area by the re-connection of several hyphae in a relatively small neighborhood. This mechanism acquires particular importance in soils under agricultural management, due to the disturbance provoked by soil management to fungal colony of these fungi.

It is not surprising the fact that the highest spore density in the soil was associated to *Pennisetum purpureum* cv. king grass, although this species presents the lowest value of mycorrhizal colonization. Similar results were obtained by Camargo & Dhillion (2002) and Li *et al.* (2007), because spore production levels do not have necessarily to reflect the abundance of AM fungi within the roots. It is also known that sporulation rates of AM fungi depend on the host (Bever *et al.* 1996), so it is logical to find different densities of spores per each studied host. Likewise, the different strategies of AM fungi colonization is related to its taxonomical differences at fungal genera level, so each isolation of these fungi show great differences, regarding the degree in which they colonize plant roots (Hart & Reader 2002). For instance, *Aster amellus* L., which was an obligated mycotrophic plant species, showed 5 % of mycorrhizal colonization, which is enough to establish an effective mycorrhizal association (Pánková *et al.* 2008).

Differences among the amount of spores produced per each host plant may be attributed to the certain host-plant "specificity" produced in this symbiotic relationship. It is known that, although associations between plants and AM fungi seem to be non-specific, several studies have demonstrated that population

con comportamiento similar al observado en este estudio.

Lugo & Cabello (2002) encontraron igualmente mayor presencia del orden Glomales, entre las 17 especies analizadas en la rizósfera de cinco gramíneas asociadas a pastizales de montaña en las Sierras de Córdoba. Los resultados de este estudio coinciden con lo informado por Schnoor *et al.* (2010), quienes determinaron 38 organismos endófitos de hongos MA, asociados a *Festuca brevipila* y *Plantago lanceolata* en un experimento para restaurar pastizales en la región oriental de Scania, en el sur de Suecia. De estos organismos, 35 pertenecen a *Glomus*.

Al igual que en este trabajo, especies del género *Glomus* dominan de forma general las comunidades de hongos MA en los suelos agrícolas de Europa (Mathimaran *et al.* 2005). Entre otras razones, esto se podría deber al mecanismo que poseen las esporas de este género para reparar los daños que experimentan las hifas en la colonia fúngica en el suelo. De acuerdo con los autores citados, el mecanismo para reparar daños en las hifas varía entre los géneros *Gigaspora*, *Scutellospora* y *Glomus*. En este último, este fenómeno incrementa la capacidad del hongo para colonizar las raíces de la planta hospedera, debido a la proliferación de nuevas hifas provenientes del ápice de la hifa cortada, pero pudiera también reconectar el área afectada por reconexión de numerosas hifas en una vecindad relativamente pequeña. Este mecanismo adquiere particular importancia en suelos bajo manejo agrícola, debido a los disturbios que ocasiona el manejo del suelo para la colonia fúngica de estos hongos.

El hecho de que la mayor densidad de esporas en el suelo haya estado asociada a *Pennisetum purpureum* vc. king grass, a pesar de presentar esta especie el más bajo valor de colonización micorrízica, no resulta sorprendente. Resultados similares obtuvieron Camargo & Dhillion (2002), Li *et al.* (2007), lo que se puede explicar porque los niveles de producción de esporas no tienen que reflejar, necesariamente, la abundancia de los hongos MA en el interior de las raíces. Se conoce además, que las tasas de esporulación de los hongos MA dependen del hospedero (Bever *et al.* 1996), por lo que resulta lógico encontrar diferentes densidades de esporas para cada hospedero estudiado. Igualmente, las distintas estrategias de colonización de los hongos MA están relacionadas con diferencias taxonómicas a nivel de género fúngico, por lo que diferentes aislamientos de estos hongos muestran grandes diferencias, en cuanto al grado en que ellas colonizan las raíces de las plantas (Hart & Reader 2002). Por ejemplo, *Aster amellus* L., que resultó ser una especie de planta micótrifa obligada, apenas mostró porcentaje de colonización micorrízica de 5 %, nivel de colonización que resulta suficiente para establecer una asociación micorrízica efectiva (Pánková *et al.* 2008).

Las diferencias entre el número de esporas producidas por cada planta hospederas se puede atribuir a la cierta "especificidad" hospedero-planta que se produce en esta relación simbiótica. Se conoce que aunque las

growth rates of fungal species were significantly affected by those plant species associated to them (Jansa *et al.* 2002).

It can be concluded that all the species showed arbuscular mycorrhizal colonization. The highest value was observed in *Brachiaria decumbens* cv. CIAT-606, with 66.27 %, while rootlets of *Pennisetum purpureum* cv. king grass showed the lowest values of this variable with 48.80 %. There were 13 species and/or morphotypes of AMF. The highest density of spores of mycorrhizal fungi was associated to *Pennisetum purpureum* cv. king grass, with 3,399 spores/100g of soil, while the lowest value belonged to *Brachiaria decumbens* cv. CIAT-606, with only 195 spores/100g. AMF communities were dominated by the presence of species from *Glomus* genus.

asociaciones entre las plantas y los hongos MA parecen ser no específicas, numerosos estudios han demostrado que las tasas de crecimiento poblacional de las especies fúngicas se afectaron significativamente por las especies de plantas a las se asociaron (Jansa *et al.* 2002).

Se concluye que todas las especies mostraron colonización micorrízica arbuscular. El mayor valor se observó en *Brachiaria decumbens* cv CIAT-606, con 66.27 %, mientras que las raicillas del *Pennisetum purpureum* cv. king grass mostraron los menores valores de esta variable con 48.80 %. Se observaron 13 especies y/o morfotipos de HMA. La mayor densidad de esporas de los hongos micorrizógenos estuvo asociada al *Pennisetum purpureum* cv. king grass con 3399 esporas/100g de suelo, mientras el menor valor correspondió a *Brachiaria decumbens* cv CIAT-606, con solo 195 esporas/100g. Las comunidades de hongos MA estuvieron dominadas por la presencia de especies pertenecientes al género *Glomus*.

References

- Alarcón, P. C. A. 2001. Las micorrizas arbusculares en las dunas costeras de la península de Paraguaná, Estado de Falcón. Ph.D. Thesis, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.
- Allen, M. F. 2001. "Modeling arbuscular mycorrhizal infection: is % infection an appropriate variable?". *Mycorrhiza*, 10 (5): 255–258, ISSN: 0940-6360, 1432-1890, DOI: 10.1007/s005720000081.
- Bever, J. D., Morton, J. B., Antonovics, J. & Schultz, P. A. 1996. "Host-Dependent Sporulation and Species Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in a Mown Grassland". *Journal of Ecology*, 84 (1): 71–82, ISSN: 0022-0477, DOI: 10.2307/2261701.
- Błaszowski, J. 2012. *Glomeromycota*: W. Szafer Institute of Botany. vol. 23, Kraków: Polish Academy of Sciences, 303 p., ISBN: 978-83-89648-82-2, Available: <<http://link.springer.com/10.1007/s00572-012-0470-y>>, [Consulted: April 11, 2016].
- Busby, R. R., Stromberger, M. E., Rodriguez, G., Gebhart, D. L. & Paschke, M. W. 2012. "Arbuscular mycorrhizal fungal community differs between a coexisting native shrub and introduced annual grass". *Mycorrhiza*, 23 (2): 129–141, ISSN: 0940-6360, 1432-1890, DOI: 10.1007/s00572-012-0455-x.
- Calderón, M. & González, P. J. 2007. "Respuesta del pasto guinea (*Panicum maximum*, cv. Likoni) cultivado en suelo ferralítico rojo lixiviado a la inoculación de hongos micorrizicos arbusculares". *Cultivos tropicales*, 28 (3): 33–37, ISSN: 0258-5936.
- Camargo, R. S. L. & Dhillon, S. S. 2002. "Endemic Mimosa species can serve as mycorrhizal 'resource islands' within semiarid communities of the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico". *Mycorrhiza*, 13 (3): 129–136, ISSN: 0940-6360, 1432-1890, DOI: 10.1007/s00572-002-0206-5.
- Dickson, S., Smith, F. A. & Smith, S. E. 2007. "Structural differences in arbuscular mycorrhizal symbioses: more than 100 years after Gallaud, where next?". *Mycorrhiza*, 17 (5): 375–393, ISSN: 0940-6360, 1432-1890, DOI: 10.1007/s00572-007-0130-9.
- Duncan, D. B. 1955. "Multiple Range and Multiple F Tests". *Biometrics*, 11 (1): 1–42, ISSN: 0006-341X, DOI: 10.2307/3001478.
- Ferrer, R. L. & Herrera, R. A. 1980. "El género *Gigaspora* Gerdemann et Trappe (Endogonaceae) en Cuba". *Revista del Jardín Botánico Nacional*, 1 (1): 43–66, ISSN: 0253-5696.
- Fundora, S. L. R., Rivera, E. R., Martín, C. J. V., Calderón, P. A. & Torres, H. A. 2011. "Utilización de cepas eficientes de hongos micorrizicos arbusculares en el desarrollo de portainjertos de aguacate en un sustrato suelo-cachaza". *Cultivos Tropicales*, 32 (2): 23–29, ISSN: 0258-5936.
- Gallaud, I. 1904. *Études sur les mycorhizes endotrophes*. Ph.D. Thesis, Le Bigot frères, Lille, Available: <<http://www.worldcat.org/title/etudes-sur-les-mycorhizes-endotrophes/oclc/491156274>>, [Consulted: April 4, 2016].
- Gao, Q. M. & Guo, L. D. 2010. "A comparative study of arbuscular mycorrhizal fungi in forest, grassland and cropland in the Tibetan Plateau, China". *Mycology*, 1 (3): 163–170, ISSN: 2150-1203, DOI: 10.1080/21501203.2010.510123.
- Gerdemann, J. W. & Nicolson, T. H. 1963. "Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting". *Transactions of the British Mycological Society*, 46 (2): 235–244, ISSN: 0007-1536, DOI: 10.1016/S0007-1536(63)80079-0.
- Gibson-Roy, P., McLean, C., Delpratt, J. C. & Moore, G. 2014. "Do arbuscular mycorrhizal fungi recolonize revegetated grasslands?". *Ecological Management & Restoration*, 15 (1): 87–91, ISSN: 1442-8903, DOI: 10.1111/emr.12081.
- Giovannetti, M. & Mosse, B. 1980. "An Evaluation of Techniques for Measuring Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Infection in Roots". *New Phytologist*, 84 (3): 489–500, ISSN: 1469-8137, DOI: 10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x.
- González, P. J., Plana, R., Igarza, E. & Ramírez, J. 2006. "Efecto del antecedente cultural en la respuesta de *Panicum*

- maximum*, cv. Likoni a la inoculación de hongos micorrizógenos arbusculares”. In: XV Congreso Científico del INCA, La Habana, Cuba: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, ISBN: 959-7023-36-9.
- Hart, M. M. & Reader, R. J. 2002. “Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi”. *New Phytologist*, 153 (2): 335–344, ISSN: 0028-646X, 1469-8137, DOI: 10.1046/j.0028-646X.2001.00312.x.
- Hernández, J. A., Pérez, J. J. M., Bosch, I. D. & Castro, S. N. 2015. Clasificación de los suelos de Cuba 2015. Mayabeque, Cuba: Ediciones INCA, 93 p., ISBN: 978-959-7023-77-7.
- Herrera, P. R. A., Furrázola, E., Ferrer, R. L., Fernández, R. & Torres, Y. 2004. “Functional strategies of root hairs and arbuscular mycorrhizae in an evergreen tropical forest, Sierra del Rosario, Cuba”. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 35 (2): 113–123, ISSN: 0253-5688, 2221-2450.
- Jansa, J., Mozafar, A., Anken, T., Ruh, R., Sanders, I. & Frossard, E. 2002. “Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil”. *Mycorrhiza*, 12 (5): 225–234, ISSN: 0940-6360, 1432-1890, DOI: 10.1007/s00572-002-0163-z.
- Lekberg, Y. & Koide, R. T. 2005. “Is plant performance limited by abundance of arbuscular mycorrhizal fungi? A meta-analysis of studies published between 1988 and 2003”. *New Phytologist*, 168 (1): 189–204, ISSN: 1469-8137, DOI: 10.1111/j.1469-8137.2005.01490.x.
- Li, L. F., Zhang, Y. & Zhao, Z. W. 2007. “Arbuscular mycorrhizal colonization and spore density across different land-use types in a hot and arid ecosystem, Southwest China”. *Journ Plant Nutrit Soil Science*, 170 (3): 419–425, ISSN: 1522-2624.
- Lugo, M. A. & Cabello, M. N. 2002. “Native arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from mountain grassland (Córdoba, Argentina) I. Seasonal variation of fungal spore diversity”. *Mycologia*, 94 (4): 579–586, ISSN: 0027-5514, 1557-2536.
- Mathimaran, N., Ruh, R., Vulllioud, P., Frossard, E. & Jansa, J. 2005. “Glomus intraradices dominates arbuscular mycorrhizal communities in a heavy textured agricultural soil”. *Mycorrhiza*, 16 (1): 61–66, ISSN: 0940-6360, 1432-1890, DOI: 10.1007/s00572-005-0014-9.
- Medina, L. R., Rodríguez, Y., Torres, Y. & Herrera, R. 2010. “Aislamiento e identificación de hongos micorrizicos arbusculares nativos de la zona de Las Caobas, Holguín”. *Cultivos Tropicales*, 31 (3): 33–42, ISSN: 0258-5936.
- Monroy, H. J., Salamanca, C. R., Cano, C., Moreno, C. L. M. & Orduz, R. J. O. 2013. “Influencia de las coberturas en cultivos de cítricos sobre los hongos formadores de micorrizas arbusculares en Oxisoles del piedemonte llanero colombiano”. *Revista Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 14 (1): 53–65, ISSN: 0122-8706.
- Neumann, E. & George, E. 2004. “Colonisation with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) enhanced phosphorus uptake from dry soil in *Sorghum bicolor* (L.)”. *Plant and Soil*, 261 (1-2): 245–255, ISSN: 0032-079X, 1573-5036, DOI: 10.1023/B:PLSO.0000035573.94425.60.
- Pánková, H., Münzbergová, Z., Rydlová, J. & Vosátka, M. 2008. “Differences in AM fungal root colonization between populations of perennial Aster species have genetic reasons”. *Oecologia*, 157 (2): 211–220, ISSN: 0029-8549, 1432-1939, DOI: 10.1007/s00442-008-1064-4.
- Pérez, A., Rojas, S. J. & Donicer, M. V. 2011. “Hongos formadores de micorrizas arbusculares: una alternativa biológica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el Caribe colombiano”. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 3 (2): 366–385, ISSN: 2027-4297.
- Pérez, A. & Vertel, M. 2010. “Evaluación de la colonización de micorrizas arbusculares en pasto *Bothriochloa pertusa* (L) *A. Camus*”. *Revista MVZ Córdoba*, 15 (3): 2165–2174, ISSN: 1909-0544.
- Pérez, N. J. C. 2009. Dark septate and arbuscular mycorrhizal fungal endophytes in roots of prairie grasses. Ph.D. Thesis, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada, 106 p.
- Phillips, J. M. & Hayman, D. S. 1970. “Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection”. *Transactions of the British Mycological Society*, 55 (1): 158–161, ISSN: 0007-1536.
- Piotrowski, J. S., Denich, T., Klironomos, J. N., Graham, J. M. & Rillig, M. C. 2004. “The effects of arbuscular mycorrhizas on soil aggregation depend on the interaction between plant and fungal species”. *New Phytologist*, 164 (2): 365–373, ISSN: 1469-8137, DOI: 10.1111/j.1469-8137.2004.01181.x.
- Ramos, M. A. C. 2014. Fixação biológica de nitrogênio e micorrização em gramíneas dos campos sulinos. M.Sc. Thesis, Universidad Federal de Santa Maria, Brasil.
- Rodríguez, R. R. M., Torres, A. Y. & Furrázola, G. E. 2014. “Micorrizas arbusculares asociadas a Júcaro de ciénaga (*Bucida palustris*) y Soplillo (*Lysiloma latisiliquum*) en la Reserva de la Biosfera Ciénaga de Zapata, Cuba”. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 45 (2): 86–93, ISSN: 0253-5688, 2221-2450.
- Sabais, A. C. W., Eisenhauer, N., König, S., Renker, C., Buscot, F. & Scheu, S. 2012. “Soil organisms shape the competition between grassland plant species”. *Oecologia*, 170 (4): 1021–1032, ISSN: 0029-8549, 1432-1939, DOI: 10.1007/s00442-012-2375-z.
- Schnoor, T. K., Lekberg, Y., Rosendahl, S. & Olsson, P. A. 2010. “Mechanical soil disturbance as a determinant of arbuscular mycorrhizal fungal communities in semi-natural grassland”. *Mycorrhiza*, 21 (3): 211–220, ISSN: 0940-6360, 1432-1890, DOI: 10.1007/s00572-010-0325-3.
- Sikes, B. A., Cottenie, K. & Klironomos, J. N. 2009. “Plant and fungal identity determines pathogen protection of plant roots by arbuscular mycorrhizas”. *Journal of Ecology*, 97 (6): 1274–1280, ISSN: 1365-2745, DOI: 10.1111/j.1365-2745.2009.01557.x.
- Tawaraya, K. 2003. “Arbuscular mycorrhizal dependency of different plant species and cultivars”. *Soil Science and Plant Nutrition*, 49 (5): 655–668, ISSN: 0038-0768, DOI: 10.1080/00380768.2003.10410323.
- Terry, A. E., Ruiz, P. J., Tejada, P. T. & de Armas, M. M. D. 2013. “Respuesta del cultivo de la habichuela (*Phaseolus*

- vulgaris* L. var. *Verlili.*) a la aplicación de diferentes bioproductos”. *Cultivos Tropicales*, 34 (3): 05–10, ISSN: 0258-5936.
- van der Heijden, M. G., Klironomos, J. N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A. & Sanders, I. R. 1998. “Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity”. *Nature*, 396 (6706): 69–72, ISSN: 1994-1625.
- Vélez, Z. F. J. & Sánchez, de P. M. 2015. “Dinámica de los hongos de Micorriza Arbuscular (MA) en un Humic Dystrudepts sembrado con maíz *Zea mays* L. y Abonos Verdes (AV)”. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental (RIAA)*, 5 (1): 69–79, ISSN: 2145-6453.

Received: November 17, 2015