

ARTÍCULO CIENTÍFICO

Respuesta de *Leucaena leucocephala* cv. Perú a la aplicación de diferentes dosis de MicoFert agrícola

Response of Leucaena leucocephala cv. Peru to the application of different doses of agricultural MicoFert

L. Ojeda¹, E. Furrázola² y Consuelo Hernández¹

¹Estación Experimental de Suelos y Fertilizantes Escambray,
Barajagua, Cumanayagua, Cienfuegos, Cuba

²Instituto de Ecología y Sistemática. Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente, La Habana, Cuba
Correo electrónico: ljojeda@ucf.edu.cu

RESUMEN: Se realizó una investigación en la Empresa Pecuaria El Tablón (Cumanayagua, provincia Cienfuegos, Cuba), con el objetivo de evaluar el efecto que ejerce la aplicación de diferentes dosis de MicoFert agrícola sobre la producción de materia seca (MS) y el contenido de fósforo foliar en *Leucaena leucocephala* cv. Perú. El diseño fue de bloques al azar, con seis tratamientos y tres réplicas. Los tratamientos estuvieron constituidos por cuatro dosis de MicoFert (250, 500, 750 y 1 000 g/m³), una variante a razón de 25 kg de N ha⁻¹, y el control. El experimento tuvo una duración de dos años; se realizaron cuatro cortes por año, con una frecuencia de 90 días, a una altura de 25 cm sobre el suelo. La aplicación de MicoFert agrícola incrementó el rendimiento de MS entre 13 y 40 %, de forma proporcional a las dosis aplicadas, respecto al control. El rendimiento más alto de MS (18,44 t ha⁻¹) se obtuvo con la aplicación de nitrógeno, y difirió significativamente del resto de los tratamientos. Fue evidente el efecto que ejerció la inoculación con el biofertilizante en el contenido de fósforo foliar, el cual mostró diferencias significativas entre las variantes con MicoFert y el control. La colonización de raicillas por los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) fue proporcional al incremento de las dosis de biofertilizante, con valores de 34, 38, 44 y 49 %, respectivamente. La fertilización con nitrógeno y el control presentaron 28 y 26 % de colonización micorrízica, lo que indicó la presencia de HMA nativos.

Palabras clave: micorrizas arbusculares vesiculares, *Leucaena leucocephala*

ABSTRACT: A study was conducted at the Livestock Production Enterprise El Tablón (Cumanayagua, Cienfuegos province, Cuba), in order to evaluate the effect exerted by the application of different doses of agricultural MicoFert on the dry matter (DM) production and the leaf phosphorus content in *Leucaena leucocephala* cv. Peru. The design was randomized blocks, with six treatments and three replications. The treatments were constituted by four doses of MicoFert (250, 500, 750 and 1 000 g m⁻³), a variant at a rate of 25 kg of N ha⁻¹, and the control. The experiment lasted two years; four cuttings per year were made, with a frequency of 90 days, at a height of 25 cm over the soil. The application of agricultural MicoFert increased the DM yield between 13 and 40 %, proportionally to the applied doses, with regards to the control. The highest DM yield (18,44 t ha⁻¹) was obtained with the application of nitrogen, and significantly differed from the other treatments. The effect exerted by the inoculation with the biofertilizer on the leaf phosphorus content was evident, showing significant differences among the variants with MicoFert and the control. The colonization of rootlets by the arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) was proportional to the increase of the biofertilizer doses, with values of 34, 38, 44 and 49 %, respectively. The fertilization with nitrogen and the control showed 28 and 26 % of mycorrhizal colonization, which indicated the presence of native AMF.

Key words: vesicular arbuscular mycorrhizae, *Leucaena leucocephala*

INTRODUCCIÓN

La agricultura intensiva se caracteriza por el empleo de altas dosis de fertilizantes, principalmente nitrógeno y fósforo (Verbruggen y Kiers, 2010). El manejo agrícola ocasiona varios problemas ambientales, entre los que predomina la excesiva fertilización química, que contamina los cuerpos de agua y causa su eutroficación (Cuenca *et al.*, 2007). Igualmente, la labranza puede modificar las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Beauregard *et al.*, 2010), así como hacer que decrezca la diversidad micorrízica a nivel de familia (Jansa *et al.*, 2002).

Según Jeffries y Barea (2001), la agricultura sostenible es un sistema integrado por prácticas de producción vegetal y animal que a largo plazo debe: satisfacer las necesidades humanas de fibra y alimentos, mejorar la calidad ambiental y la base de recursos naturales de los que depende la economía agrícola, hacer un uso eficiente de los recursos no renovables, sostener la viabilidad económica de las actividades agrícolas, y contribuir a que aumente la calidad de vida de los agricultores y de la sociedad como un todo.

Entre los manejos conservacionistas se encuentra el uso de biofertilizantes, en los que se incluyen los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA); estos forman asociaciones simbióticas mutualistas con la mayoría de los cultivos de interés agrícola, y ofrecen una amplia perspectiva de uso en los diferentes sistemas agropecuarios (Castillo, 2012).

El MicoFert (marca registrada en la Oficina Cubana de Propiedad Industrial –OCPI– y en el Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual –Indecopi–, Perú) es un biofertilizante producido por el Instituto de Ecología y Sistemática –IES– (Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente de Cuba), mediante una ecotecnología desarrollada desde 1993 (Ferrer *et al.*, 2004; Ley-Rivas *et al.*, 2009). Está constituido por una mezcla de diferentes cepas de HMA, procedentes de la colección cubana de hongos micorrizógenos –CCHMA– (Herrera-Peraza *et al.*, 2011), los cuales se asocian a las raicillas de las plantas e incrementan significativamente la superficie de absorción de la raíz.

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar, el efecto que ejerció la aplicación de diferentes dosis de MicoFert agrícola en la producción de MS y el contenido de fósforo foliar en *L. leucocephala* cv. Perú, forraje proteico que pudiera incrementar los indicadores productivos (García *et al.*, 2008; Ruiz *et al.*, 2008).

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación, que tuvo una duración de dos años, se realizó en un suelo Pardo Grisáceo (Hernández *et al.*, 1999), el cual presenta las siguientes características agroquímicas: pH (KCl): 4,19; P₂O₅: 1,94; K₂O: 9,86 mg 100 g⁻¹ de suelo; y materia orgánica: 1,34 %. Se empleó un diseño de bloques al azar, con tres réplicas y parcelas de 16 m²; las cuales se sembraron con *L. leucocephala* cv. Perú destinada a forraje, ya que esta planta posee excelente adaptación a las condiciones edafoclimáticas del territorio y ocupa más del 70 % en las áreas forrajeras.

Los tratamientos evaluados fueron:

1. MicoFert agrícola: 250 g m⁻¹
2. MicoFert agrícola: 500 g m⁻¹
3. MicoFert agrícola: 750 g m⁻¹
4. MicoFert agrícola: 1 000 g m⁻¹
5. Nitrógeno: 25 kg ha⁻¹año⁻¹
6. Control

El MicoFert se colocó en el fondo del surco, durante la siembra. El nitrógeno (urea al 46 % como fuente de fertilizante) se aplicó por primera vez cuando las plantas tenían 25 días de emergidas y a inicios del segundo año, en dosis de 25 kg ha⁻¹año⁻¹. La leucaena se sembró a una profundidad de 2-3 cm, a una distancia entre surcos de 0,70 y 0,05 m entre plantas, con lo que se garantizó una densidad de 28 571 plantas ha⁻¹. El número de plantas por parcela fue de 457; de ellas, 257 correspondían al área evaluable. Antes de la siembra, las semillas se remojaron en agua corriente durante doce horas; al concluir esta, se aplicó riego para garantizar la humedad del suelo.

El corte de establecimiento se efectuó a los 6,5 meses, cuando las plantas alcanzaron una altura promedio de 143 cm. Se realizaron ocho cortes (cuatro por año), con una frecuencia de 90 días; al periodo poco lluvioso correspondieron los cortes 1, 4, 5 y 8; y al lluvioso, los cortes 2, 3, 6 y 7. En cada uno se midió la masa verde, en un área de 9 m² (después de eliminado el efecto de borde); se tomaron muestras con un marco de 1 m² (29 plantas), en las cuales se determinó la materia seca (MS) y el contenido de fósforo por digestión con H₂SO₄ + Se, mediante el método del molibdo-vanadato (Ríos *et al.*, 1982). El corte de establecimiento no fue considerado dentro de los análisis.

Al finalizar los cortes, se analizaron las variables micorrizicas en muestras de raicillas. De las plantas comprendidas en 1 m² de área evaluable se tomaron los sistemas radicales y el suelo rizosférico asociado (profundidad de 0-10 cm), los cuales

fueron secados al aire y almacenados en bolsas plásticas hasta su procesamiento en el laboratorio. Las raicillas menores de 2 mm de diámetro se lavaron, se cortaron (1 cm de longitud) y se tiñeron con azul tripán, según el método de Phillips y Hayman (1970). El porcentaje de colonización micorrízica arbuscular se cuantificó de acuerdo con la metodología de Giovannetti y Mosse (1980), que consistió en distribuir al azar, aproximadamente, 1,5 g de raíces teñidas en una placa Petri de 8 cm de diámetro; en el fondo de esta se dibujó un retículo con cuadros de 0,5 pulgadas (1,27 cm), y se contaron 100 intersecciones de raíces con las líneas de este retículo. La placa fue recorrida tres veces para cada muestra, mediante desplazamientos en líneas rectas paralelas. La presencia de micorrización en cada intersección representó la colonización micorrízica de la raíz.

La dependencia micorrízica (DM) se calculó mediante la siguiente fórmula propuesta por Siqueira y Franco (1988):

$$DM = \frac{\text{masa seca micorrizada}}{\text{masa seca de la planta no micorrizada}} \times 100$$

Los resultados se analizaron mediante un ANOVA simple y las medias se compararon según la prueba de rangos múltiples de Duncan (1955).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El rendimiento de MS fue superior en los tratamientos inoculados con MicoFert agrícola (tabla 1) y se incrementó entre 13 y 40 %, de forma proporcional al aumento de las dosis. El mayor contenido de MS se obtuvo con la aplicación de nitrógeno, y difirió significativamente del resto de los tratamientos.

Sieverding y Barea (1991) señalaron que los suelos naturales pueden tener tanto bajas como altas

concentraciones de propágulos de hongos micorrizógenos (1mL^{-1}-50mL^{-1}), por lo que los introducidos mediante inoculación tienen que competir con los nativos. Dichos autores refirieron, además, que cuando el inóculo se coloca debajo de la semilla puede aumentar su capacidad de competencia. El método de inoculación empleado en la presente investigación coincidió en parte con lo planteado por ellos, ya que el MicoFert agrícola se aplicó en el momento de la siembra, en el fondo del surco y debajo de las semillas. Los resultados indicaron que la inoculación del MicoFert fue efectiva, por lo que se validó su forma de producción y aplicación.

La inoculación con hongos formadores de la micorriza es más factible cuando la cantidad de propágulos de HMA en los suelos agrícolas es baja, y donde haya existido previamente un cultivo no micótrofo y/o las poblaciones autóctonas no sean lo suficientemente agresivas al colonizar las plantas para promover el crecimiento vegetal. Ojeda *et al.* (1994) encontraron, en condiciones similares a las del presente estudio, la presencia de HMA en pastizales de gramíneas establecidos por más de cinco años (*Megathyrus maximus*, *Brachiaria decumbens* y *Cynodon nlemfuensis*); pero con un número relativamente bajo de esporas en 100 g de suelo (383, 195 y 321, respectivamente), lo que pudiera corroborar la respuesta satisfactoria del rendimiento a la inoculación del MicoFert agrícola.

Asimismo varios factores abióticos, como el manejo agronómico, la erosión del suelo y el uso de plaguicidas, intervienen significativamente en la permanencia y colonización de la comunidad micorrízica del suelo. Entre las variables con mayor impacto se encuentran: el nivel de fertilidad fosfórica y nitrogenada del suelo, el contenido de materia orgánica, la acidez y la época del año (Chaus,

Tabla 1. Rendimiento de MS de *L. leucocephala*. cv. Perú.

Tratamiento	MS (t ha ⁻¹)			Incremento (%)
	PPLI	PLI	Total	
Control	3,05 ^f	7,45 ^f	10,51 ^f	-
250 g m ⁻¹	3,25 ^e	8,62 ^e	11,88 ^e	13
500 g m ⁻¹	3,84 ^d	8,96 ^d	12,80 ^d	22
750 g m ⁻¹	4,47 ^c	9,68 ^c	14,16 ^c	35
1 000 g m ⁻¹	4,66 ^b	10,07 ^b	14,75 ^b	40
Nitrógeno, 25 kg ha ⁻¹ año ⁻¹	6,28 ^a	12,16 ^a	18,44 ^a	-
EE (±)	0,019**	0,014**	0,016**	

PPLI: periodo poco lluvioso, PLI: periodo lluvioso

a, b, c, d, e, f: valores con superíndices no comunes difieren a $p < 0,05$; $p \leq 0,01$ **

2007), las cuales no sufrieron modificaciones; solo varió la precipitación, y su efecto en el rendimiento fue evidente al comparar los dos periodos del año.

La respuesta a la inoculación estuvo bien definida, no solo entre las diferentes dosis, sino también en el control y en el tratamiento con fertilización mineral. En este sentido, es importante la respuesta favorable del rendimiento en las variantes inoculadas, lo que indica que el MicoFert pudo perdurar en el tiempo. Ello coincide con lo señalado por Smith y Read (2008), quienes encontraron un efecto tardío de las inoculaciones con HMA en diferentes especies de leguminosas y gramíneas, en condiciones naturales.

Además, se conoce que el papel natural de los HMA puede ser minimizado por la práctica de una agricultura intensiva (Curaqueo *et al.*, 2011; Mirás-Avalos *et al.*, 2011), debido a que las comunidades microbianas en los sistemas agrícolas convencionales son modificadas por la aradura de los campos y la aplicación de altas dosis de fertilizantes inorgánicos, herbicidas y plaguicidas.

La dependencia micorrízica estuvo directamente relacionada con el rendimiento de biomasa seca (fig. 1). De forma general, la leucaena mostró dependencia a la inoculación con HMA, lo que se incrementó proporcionalmente al aumento de la dosis de biofertilizante.

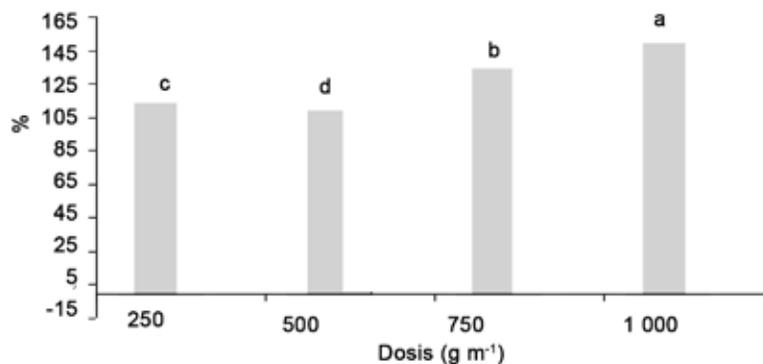
Existen plantas altamente «micorrízico-dependientes», en las cuales la micorriza se podría considerar como una alternativa al uso de los fertilizantes. En este sentido, Sheng *et al.* (2008), Abbaspour (2010), Smith *et al.* (2010) y Doubková *et al.* (2013) demostraron que la inoculación artificial con

HMA en especies de interés agrícola incrementa la nutrición y el crecimiento de la planta, y permite superar situaciones de estrés biótico y abiótico. Además, constataron que 1 cm de raíz sin HMA explora 1-2 cm³ de suelo, mientras que al inocular HMA este volumen aumenta entre 5 y 200 veces; normalmente, el volumen de suelo infestado es de 12-15 cm³, y excepcionalmente se ha llegado a 200 cm³.

Siqueira y Franco (1988), al evaluar el efecto de la inoculación con HMA en gramíneas en condiciones de campo y en leguminosas anuales en el momento de la siembra, hallaron dependencia a la micorrización en el centeno (36-167 %), el millo (30-60 %), la soya (21-50 %), el frijol caupí (20-50 %), el frijol común (10-39 %) y el trébol forrajero (20-150 %). El incremento del rendimiento (5-45 %) en el presente estudio, respecto al control absoluto, se ubica dentro del rango citado por estos autores; quienes señalaron además que la aplicación de HMA en leguminosas forrajeras fue factible cuando estas se utilizaron intercaladas con gramíneas o en bancos de proteína.

Los mencionados autores también se refirieron a que con la aplicación de 200 g m⁻¹ (4 t ha⁻¹) en un suelo con bajo contenido de fósforo se logró un rápido establecimiento de las plantas, una mayor producción de biomasa y una efectividad del inoculante en el tiempo (efecto residual) de 6-9 meses, lo cual permitió realizar tres cortes por año. Estos resultados coinciden con los de la presente investigación, aunque en este caso el efecto residual fue mayor, se realizaron nueve cortes (incluido el de establecimiento) y se detectó la presencia de HMA.

En los cultivos anuales, los beneficios de la simbiosis se expresan a los 20-30 días, después de



a, b, c, d: valores con superíndices no comunes difieren a $p < 0,05$.

Figura 1. Dependencia micorrízica de *L. leucocephala* cv. Perú.

la biofertilización; mientras que en los cultivos perennes, hasta después de los tres meses. En el Pacífico Sur (estados de Chiapas, Guerrero y Oaxaca) se establecieron nueve sitios de validación en terrenos de productores, sembrados con frijol (*Phaseolus vulgaris*), y se obtuvieron rendimientos de 910 kg/ha en el testigo y 1 335 kg ha⁻¹ al aplicar *Glomus intraradices* (Aguirre-Medina, 2009).

Los biofertilizantes micorrizógenos que se comercializan en la actualidad tienen diferentes formas de presentación (líquida o sólida); comúnmente contienen suelo como base y presentan una consistencia de polvo molido fino, que se puede incorporar fácilmente a las semillas o aplicar al material vegetal antes de la siembra, como las estacas enraizadas o los estolones de algunas plantas forrajeras tropicales. La creciente demanda de estos biopreparados se debe a los costos de los fertilizantes de origen inorgánico (químicos) y a la necesidad de producir alimentos con un menor efecto residual negativo para los suelos (Aguirre-Cadena, 2011). Con la utilización del MicoFert agrícola se pueden obtener resultados satisfactorios.

En la presente investigación, la colonización de raicillas aumentó de forma proporcional respecto al incremento de las dosis de biofertilizante (fig. 2). Asimismo, ocurrió colonización por HMA en el tratamiento con nitrógeno y en el control, aunque con valores más bajos, lo que supone la presencia de micorrizas nativas. Por otra parte, resulta significativo que después de dos años de aplicado el MicoFert se encontrara una alta colonización de raicillas; ello sugiere que los HMA contenidos en este

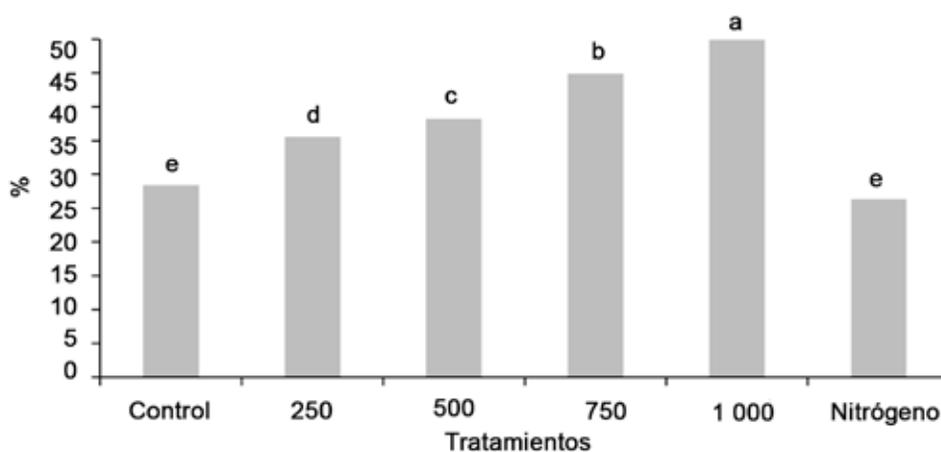
se establecieron en el suelo y fueron efectivos para la planta hospedera, a pesar del tiempo transcurrido. Sin embargo, en Cuba no existen referencias de la aplicación dosificada del Micofert agrícola en áreas de producción de leguminosas forrajeras.

González *et al.* (2012), cuando evaluaron la colonización por HMA en raíces de leguminosas cultivadas en condiciones de campo, encontraron que esta se incrementaba rápidamente con el transcurso del tiempo (34 y 56 % a los 30 días posteriores a la siembra y hasta 14 meses después, respectivamente). Estos autores observaron cambios significativos en el rendimiento de biomasa seca, debido fundamentalmente a causas que perturbaban el suelo.

En un bosque siempreverde mesófilo de la Sierra del Rosario, Herrera-Peraza *et al.* (2004) informaron porcentajes de colonización entre 10 y 100 en hierbas, arbustos y árboles, valores similares a los obtenidos en la presente investigación.

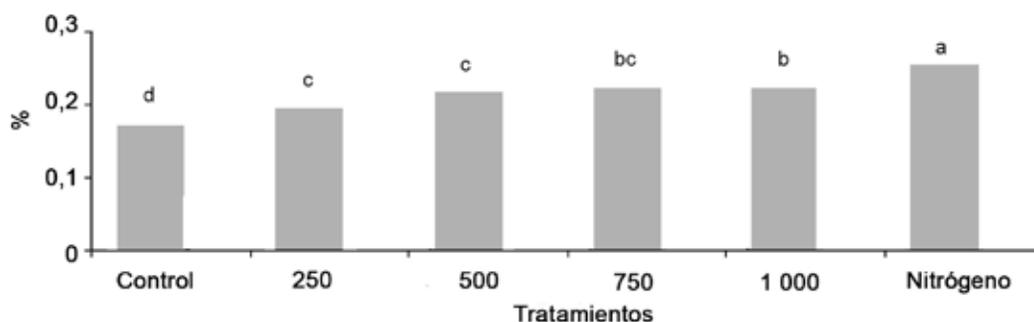
Por su parte, el contenido de fósforo foliar resultó significativamente superior en las plantas inoculadas con el biofertilizante en relación con el control (fig. 3). Este efecto favorable de la inoculación se puede considerar como un indicador de la eficiencia del MicoFert.

Sieverding y Barea (1991) evaluaron el efecto de la inoculación de *L. leucocephala* cv. Campina Grande con *Glomus etunicatum* (actualmente *Claroideoglossum etunicatum* (W. N. Becker y Gerd.) C. Walker y A. Schüssler), *Acaulospora muricata*, *Gigaspora margarita* (W. N. Becker y I. R. Hall) y *Scutellospora heterogama* (actualmente *Dentiscutata heterogama* (T. H. Nicolson y Gerd.) Sieverd., F. A.



a, b, c, d, e: valores con superíndices no comunes difieren a $p < 0,05$.

Figura 2. Efecto de la inoculación con HMA en la colonización de las raicillas



a, b, c, d: valores con superíndices no comunes difieren a $p < 0,05$.

Figura 3. Influencia de la inoculación con MicoFert agrícola en el contenido de fósforo foliar.

Souza y Oehl), y señalaron que todos los indicadores (MS, contenido de fósforo y nitrógeno en planta) aumentaron. Estos autores correlacionaron la respuesta a la inoculación con el bajo contenido de fósforo en el suelo, lo que coincide con lo hallado en el presente estudio, ya que el suelo utilizado tenía 1,94 mg de P_2O_5 (valor bajo, según los indicadores agroquímicos).

Al incrementar la dosis del inóculo de HMA se produjo una mejor captación de fósforo por la planta, con lo que se obtuvieron beneficios en la absorción de este elemento, de baja movilidad en el suelo. En tal sentido, se ha informado acerca de la capacidad que poseen las plantas micorrizadas de captar nutrimentos (nitrógeno, calcio y boro) del suelo, a través de la red de hifas y raicillas (Talbot y Treseder, 2010; Whiteside *et al.*, 2012).

Se concluye que la aplicación de MicoFert agrícola en áreas de forraje de *L. leucocephala* cv. Perú incrementó el rendimiento de MS, con una dependencia micorrizica entre 13 y 40 %, de forma proporcional al aumento de las dosis. Además, fue evidente el efecto favorable que ejerció la inoculación en el contenido de fósforo foliar. El tratamiento con nitrógeno y el control mostraron colonización micorrizica, lo que indicó la presencia de HMA nativos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbaspour, H. Investigation of the effects of vesicular arbuscular mycorrhiza on mineral nutrition and growth of *Carthamus tinctorius* under salt stress conditions. *Rus. J. Plant Physiol.* 57 (4):526-531, 2010.
- Aguirre-Cadena, J. F. & Aguirre-Medina, J. F. Biofertilizantes a base de micorriza-arbuscular y su aplicación en la agricultura. *Agroproductividad.* 4 (1):12-19, 2011.
- Aguirre-Medina, J. F. *Rendimiento y desarrollo de cultivos anuales y perennes con biofertilizantes microbianos en Chiapas.* Primer Encuentro Estatal de Productores Exitosos. Ocozocuatla de Espinosa, Chiapas. p. 60-77, 2009.
- Beauregard, M. S.; Hamel, C.; Atul, N. & St-Arnaud, M. Long-term phosphorus fertilization impacts soil fungal and bacterial diversity but not AM fungal community in alfalfa. *Microbial Ecol.* 59:379-389, 2010.
- Castillo, R. Productos naturales promotores del crecimiento vegetal como estimulantes de micorrizas arbusculares. *INNOVAGRO.* (3):8-9, 2012.
- Chaus, S. *Definición de fertilización ecológica.* Versión 1.1. USA: Rice University, 2007.
- Cuenca, G.; Cáceres, A.; Oirdobro, G.; Hasmy, Z. & Urdaneta, C. Las micorrizas arbusculares como alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales. *Interciencia.* 32 (1):23-29, 2007.
- Curaqueo, G.; Barea, J. M.; Acevedo, E.; Rubio, R.; Cornejo, P. & Borie, F. Effects of different tillage system on arbuscular mycorrhizal fungal propagules and physical properties in a Mediterranean agroecosystem in central Chile. *Soil Till. Res.* 113:11-18, 2011.
- Doubková, P.; Vlasáková, E. & Sudová, R. Arbuscular mycorrhizal symbiosis alleviates drought stress imposed on *Knautia arvensis* plants in serpentine soil. *Plant Soil.* 370:149-161, 2013.
- Duncan, D. B. Multiple range and multiple F test. *Biometrics.* 11:1-42, 1955.
- Ferrer, R. L.; Furrázola, E. & Herrera, R. A. Selección de hospederos y substratos para la producción de inóculos micorrizogénos vesículo-arbusculares. *Acta Bot. Cub.* 168:1-10, 2004.
- García, D. E.; Wencomo, Hilda B.; Gozález, M. E.; Medina, María G.; Cova, L. J. & Spengler, I. Evaluación de diecinueve ecotipos de *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit basada en la calidad nutritiva del forraje. *Zoot. Trop.* 26 (1):9-18, 2008.
- Giovannetti, M. & Mosse, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* 84:489-500, 1980.

- González, J. C.; Vega, M.; Varela, L.; Martínez, M.; Carreón, Y. & Gavito, M. E. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) communities and land use change: the conversion of temperate forests to avocado plantations and maize fields in central Mexico. *Fungal Ecol.* 5:16-23, 2012.
- Hernández, A.; Pérez, J. M.; Bosch, D. & Rivero, L. *Nueva versión de la clasificación genética de los suelos de Cuba*. La Habana: AGRINFOR, 1999.
- Herrera-Peraza, R. A.; Furrázola, E.; Ferrer, R. L.; Fernández Valle, R. & Torres Arias, Y. Functional strategies of root hairs and arbuscular mycorrhizae in evergreen tropical forests, Sierra del Rosario, Cuba. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas.* 35 (2):113-123, 2004.
- Herrera-Peraza, R. A.; Hamel, C.; Fernández, F.; Ferrer, R. L. & Furrázola, E. Soil-strain compatibility: the key to effective use of arbuscular mycorrhizal inoculants? *Mycorrhiza.* 21:183-193, 2011.
- Jansa, J.; Mozafar, A.; Anken, T.; Ruh, R.; Sanders, I. R. & Frossard, E. Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. *Mycorrhiza.* 12:225-234, 2002.
- Jeffries, P. & Barea, J. M. Arbuscular mycorrhiza - a key component of sustainable plant-soil ecosystems. In: B. Hock, ed. *The Mycota. vol. IX Fungal Associations*. Berlín: Springer. p. 95-113, 2001.
- Ley-Rivas, J. F.; Furrázola, E.; Collazo, E. & Medina, M. Efecto de la aplicación de bentonita sobre la colonización micorrízica y la esporulación de hongos micorrizógenos. *Acta Bot. Cub.* 206:34-37, 2009.
- Mirás-Avalos, J. M.; Antunes, P. M.; Koch, A.; Khosla, K.; Klironomos, J. N. & Dunfield, K. E. The influence of tillage on the structure of rhizosphere and root associated arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Pedobiologia.* 54:235-241, 2011.
- Ojeda, L. J.; Furrázola, E.; Herrera, R. A.; Hernández, C. & Castellón, A. *Especies micorrizicas cubanas en pasturas de gramíneas sobre suelo Pardo Grisáceo del Escambray. Resultado para la Investigación (18-IR-119)*. La Habana: Instituto de Suelos, 1994.
- Phillips, J. M. & Hayman, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55:158-161, 1970.
- Ríos, C.; Muñoz, P.; Zaldivar, M. & Rukis, T. *Métodos para realizar el análisis zootécnico de los alimentos en los laboratorios agroquímicos, Estación Experimental "Escambray"*. Ciudad de La Habana: Instituto de Investigaciones de Suelos y Agroquímica, CIDA, 1982.
- Ruiz, T. E.; Castillo, E.; Alonso, J. & Febles, G. *Algunos factores que influyen en la producción de biomasa en sistemas silvopastoriles en el trópico*. IV Reunión Nacional sobre sistemas agro y silvopastoriles. Colima, México, 2008.
- Sheng, M.; Tang, M.; Chen, H.; Yang, B.; Zhang, F. & Huang, Y. Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress. *Mycorrhiza.* 18:287-296, 2008.
- Sieverding, E. & Barea, J. M. Perspectivas de la inoculación de sistemas de producción vegetal con hongos formadores de micorrizas VA. En: J. Olivares y J. M. Barea, eds. *Fijación y movilización biológica de nutrientes*. Madrid: CSIC. Colección Nuevas Tendencias. vol. II. p. 221-245, 1991.
- Siqueira, J. O. & Franco, A. A. *Biotecnología do solo: fundamentos e perspectivas*. Brasília: Ministério da Educação (MEC), Escola Superior de Agricultura de Lavras (ESAL), Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão (FAEPE), Associação Brasileira de Educação Agrícola Superior (ABEAS), 1988.
- Smith, S. E.; Facelli, E.; Pope, S. & Smith, F. A. Plant performance in stressful environments: interpreting new and established knowledge of the roles of arbuscular mycorrhizas. *Plant Soil.* 326:3-20, 2010.
- Smith, S. E. & Read, D. J. *Mycorrhizal symbiosis*. 3rd ed. London: Elsevier Ltd, 2008.
- Talbot, J. M. & Treseder, K. K. Controls over mycorrhizal uptake of organic nitrogen. *Pedobiologia.* 53:169-179, 2010.
- Verbruggen, E. & Kiers, E. T. Evolutionary ecology of mycorrhizal functional diversity in agricultural systems. *Evolutionary Applications.* 3:547-560, 2010.
- Whiteside, M. D.; Digman, M. A.; Gratton, E. & Treseder, K. K. Organic nitrogen uptake by arbuscular mycorrhizal fungi in a boreal forest. *Soil Biol. Biochem.* 55:7-13, 2012.