

Artículo científico

Inoculación de *Canavalia ensiformis* con hongos micorrízico arbusculares en la fase de establecimiento

Inoculation of *Canavalia ensiformis* with arbuscular mycorrhizal fungi in the establishment stage

Lázaro J. Ojeda-Quintana¹, Pedro J. González-Cañizares², Ramón Rivera-Espinosa², Eduardo Furrázola-Gómez³, Juan J de la Rosa-Capote¹, Martha E. Hernández-Vilches¹, Yudeimy I. Rodríguez-González¹ y Consuelo Hernández-Rodríguez⁴

¹Centro Universitario Municipal, Cumanayagua, Universidad de Cienfuegos, Cuba

E-mail: joberoverde@azurina.cult.cu

²Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Mayabeque, Cuba

³Instituto de Ecología y Sistemática, La Habana, Cuba

⁴UCTB de Suelos, Barajagua, Cienfuegos

Resumen

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto de hongos micorrízico arbusculares (HMA) sobre el rendimiento y la calidad del forraje de *Canavalia ensiformis* en la fase de establecimiento. Se evaluaron tres especies de HMA y un testigo, en un diseño de bloques al azar con cuatro tratamientos y tres repeticiones. Las variables evaluadas fueron: rendimiento de biomasa seca aérea, índice de eficiencia, proteína bruta, extracción de NPK, colonización y densidad visual de las raíces. La inoculación con especies de HMA superó al testigo en todas las variables. Los mayores valores de rendimiento de biomasa seca se hallaron en *Funneliformis mosseae*/INCAM-2, y los menores en el testigo, con diferencias significativas a $p \leq 0,05$ (8,30 y 4,35 t ha⁻¹, respectivamente). La extracción de N, P₂O₅ y K₂O alcanzó valores de 254,73; 32,26; 210,96 y de 120,43; 15,03; 77,00 para *F. mosseae* /INCAM-2 y el testigo, respectivamente ($p \leq 0,05$). *F. mosseae*/INCAM-2 y *Glomus cubense*/INCAM-4 mostraron los mayores valores de colonización y de densidad visual, aunque esta última no difirió de *Rhizoglosum intraradices*/INCAM-11. Se concluye que las diferentes cepas de HMA inoculadas superaron al testigo en el rendimiento de masa seca, proteína bruta y extracción de macronutrientes del suelo, aunque la mayor efectividad en cualquiera de estas variables se obtuvo con la inoculación de la cepa *F. mosseae*/INCAM-2.

Palabras clave: inoculación, proteína bruta, rendimiento.

Abstract

The objective of the study was to evaluate the effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on the forage yield and quality of *Canavalia ensiformis* in the establishment stage. Three AMF species and a control were evaluated, in a randomized block design with four treatments and three repetitions. The evaluated variables were: aerial dry biomass yield, efficiency index, crude protein, NPK extraction, colonization and visual density of the roots. The inoculation with AMF species surpassed the control in all the variables. The highest dry biomass yield values were found in *Funneliformis mosseae*/INCAM-2, and the lowest ones in the control, with significant differences at $p \leq 0,05$ (8,30 and 4,35 t ha⁻¹, respectively). The extraction of N, P₂O₅ and K₂O reached values of 254,73; 32,26; 210,96 and 120,43; 15,03; 77,00 for *F. mosseae* /INCAM-2 and the control, respectively ($p \leq 0,05$). *F. mosseae*/INCAM-2 and *Glomus cubense*/INCAM-4 showed the highest values of colonization and visual density, although the latter did not differ from *Rhizoglosum intraradices*/INCAM-11. It is concluded that the different inoculated AMF strains surpassed the control in the dry matter yield, crude protein and extraction of macronutrients from the soil, although the highest effectiveness in any of these variables was obtained with the inoculation of the strain *F. mosseae* /INCAM-2.

Keywords: inoculation, crude protein, yield

Introducción

Canavalia ensiformis (L.) D. C. es una leguminosa anual originaria de México, con atributos para producir forraje debido a su eficiencia fotosintética y acumulación de biomasa en forma de forraje ver-

de disponible, de alto valor biológico (13-25 % de proteína cruda y 62 % de digestibilidad). Esta especie se adapta a las condiciones de Cuba, debido a su vigoroso crecimiento y a los aportes de N atmosférico

incorporados al sistema suelo-planta, por la vía de la fijación de nitrógeno (García-Rubido *et al.*, 2017).

La presencia de hongos formadores de la micorriza en los suelos tropicales es fundamental, ya que a través de la endosimbiosis con las raíces de la planta no solo mejora su nutrición, sino también permite que la planta se adapte a condiciones de estrés medioambiental (Petipas *et al.*, 2017).

La inclusión de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en los sistemas de fertilización de los pastos y cultivos forrajeros es una vía efectiva para mejorar su productividad y valor nutricional (Wermijewicz y Seto, 2016); además, su uso puede representar una reducción sustancial de agroquímicos, tales como fertilizantes (Rivera y Fernández, 2003) y productos fitosanitarios, por lo que se les reconoce un gran potencial en el contexto de la agricultura sostenible (Azcón-Aguilar y Barea, 2015).

Por otra parte, se ha encontrado que los HMA disminuyen los requerimientos de fósforo crítico externo para las leguminosas forrajeras anuales en suelos bajos en este elemento, presumiblemente por la mejora en la captación de este ión debido a una mayor exploración por las hifas fúngicas externas, comparado con las plantas no inoculadas (Nazeri *et al.*, 2014). Es por ello que resulta de gran importancia estudiar el efecto de estos hongos beneficiosos sobre el rendimiento y la calidad nutricional de distintas leguminosas de interés agrícola.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de HMA sobre el rendimiento y la calidad del forraje de *C. ensiformis* en la fase de establecimiento.

Materiales y Métodos

Ubicación del área de estudio. La investigación se realizó en condiciones de campo, en áreas experimentales de la Unidad Científica de Base Suelos, ubicada en el municipio de Cumanayagua –provincia de Cienfuegos, región centro sur de Cuba–, cuyas coordenadas son: 22° 09' de latitud norte y 80° 12' de longitud oeste, a 60 msnm. Se reportaron 123,2 mm de precipitación, una temperatura media de 25,02 °C y 76 % de humedad relativa durante el período experimental (septiembre-diciembre 2017).

Características generales del suelo. El suelo se clasifica como Pardo grisáceo (Hernández-Jiménez *et al.*, 2015). Algunas características del área experimental se relacionan a continuación: pH en agua 5,68, Norma Cubana ISO-10390 (ONN, 1999a); materia orgánica 1,78 %, Norma Cubana ISO-51 (ONN, 1999b); P₂O₅ y K₂O 3,62 y 8,35 mg/100 g de suelo, Norma Cubana ISO-52 (ONN, 1999c).

Procedimiento experimental. Las especies utilizadas fueron: *Funneliformis mosseae*/INCAM-2 (Schüßler y Walker, 2011), *Glomus cubense*/INCAM-4 (Rodríguez *et al.*, 2011) y *Rhizoglyphus intraradices*/INCAM-11 (Sieverding *et al.*, 2014), procedentes de la colección de cepas de HMA del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA).

El diseño fue de bloques al azar con tres repeticiones, y los siguientes tratamientos: *Funneliformis mosseae*/INCAM-2, *Glomus cubense*/INCAM-4, *Rhizoglyphus intraradices*/INCAM-11, y testigo.

Se establecieron parcelas de 8,40 m², con una separación entre sí de 0,5 m. Como unidad de evaluación se tomaron los dos surcos centrales, descartando los bordes, para un área de 2,10 m²/parcela.

Los inoculantes utilizados se multiplicaron en un sustrato arcilloso, esterilizado en autoclave a 120 °C por una hora, durante 3 días; y se usó *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk como planta hospedera. Cada inóculo contenía 30 esporas por gramo de sustrato de la especie de HMA a evaluar, así como una cantidad abundante de fragmentos de raicillas e hifas.

La inoculación de los HMA se realizó por el método del recubrimiento de las semillas, para lo cual estas se sumergieron en una pasta fluida, elaborada mediante la mezcla de una cantidad de inóculo sólido equivalente al 10 % de su peso y agua, en una proporción de 60 mL de agua por cada 100 g de inóculo (Simó-González *et al.*, 2016).

El experimento se realizó en condiciones de secano y no se utilizaron fertilizantes minerales. En todos los tratamientos, la emergencia de las plántulas ocurrió entre los cinco y siete días posteriores a la siembra. El corte se efectuó a los 69 días de forma manual, a 5 cm sobre el nivel del suelo, con el 100 % de las plantas florecidas.

En el momento del corte se cuantificó la biomasa foliar aérea (kg/parcela); y se tomó una muestra de 200 g para determinar, por pesada (0,1 g), la biomasa seca aérea, el nitrógeno (N), el fósforo (P) y el potasio (K).

El rendimiento de biomasa seca aérea (BSA, t ha⁻¹); las extracciones de N, P₂O₅ y K₂O (kg ha⁻¹) y la proteína bruta (%) se determinaron de acuerdo a las siguientes fórmulas:

1. $BSA (t\ ha^{-1}) = \frac{MV (kg\ parcela^{-1}) \times \% MS \times 10}{\text{Área de cálculo (m}^2\text{)}}$
2. Extracción de N, P₂O₅ y K₂O (kg ha⁻¹): $BSA (t\ ha^{-1}) \times \%/\text{elemento} \times 10$

En el caso del P y el K, se multiplicó por 2,29 y por 1,20 para convertirlos a P₂O₅ y K₂O, respectivamente.

Después del corte de establecimiento, las raíces fueron muestreadas en cada parcela; para ello se usó un cilindro metálico de 5 cm de diámetro y 20 cm de altura, y se siguió el protocolo utilizado para la determinación de las estructuras micorrízicas en pastizales (Rosales-Jenqui *et al.*, 2017).

Se evaluó la colonización micorrízica (% Col), a partir de la clarificación y tinción inicial de las raíces (Phillips y Hayman, 1970), con la técnica del transecto lineal (Giovannetti y Mosse, 1980); así como la densidad visual de la colonización (% DV), según la escala propuesta por Herrera-Peraza *et al.* (2004): cero: ausencia de HMA; 1: baja intensidad; 2: 0,5 %; 3: 15,5 %; 4: 35,5 % y 5: 47,5 %. Se calculó el índice de eficiencia (IE), a partir de los rendimientos de biomasa seca (BS), según la fórmula de Siqueira *et al.* (1987):

$$IE = \frac{\text{Rendimiento BMS inoculado} - \text{Rendimiento BMS testigo}}{\text{Rendimiento BMS testigo}} \times 100$$

Análisis estadístico. Los resultados se procesaron estadísticamente mediante un ANOVA, previa comprobación de los supuestos de homogeneidad de varianzas y normalidad; y se empleó la prueba de rangos múltiples de Duncan para la comparación de las medias, con una confiabilidad del 95 %, mediante el uso del programa estadístico SPSS® para Microsoft Windows versión 15.0.

Resultados y Discusión

El efecto de la inoculación de las especies de HMA sobre el rendimiento de biomasa seca aérea de canavalia y la correspondiente eficiencia micorrízica se muestran en la tabla 1. Hubo una respuesta significativa ($p \leq 0,05$) a la inoculación. Los mayores rendimientos se obtuvieron con *F.*

mosseae/INCAM-2, aunque esta no difirió significativamente de *R. intraradices*/INCAM-11, pero sí de *G. cubense*/INCAM-4. El menor rendimiento correspondió al testigo.

Rivera-Espinosa *et al.* (2017) reportaron un cambio en la efectividad de estas especies al ser inoculadas a la canavalia, en función del ambiente edáfico y con énfasis en el pH-H₂O del suelo. En condiciones de suelos Gley nodular ferruginoso, Acrisol y Ferrasol, con pH-H₂O entre 4,7 y 5,8, la mayor respuesta se halló con la inoculación de *F. mosseae*/INCAM-2, la que fue considerada como especie eficiente para esas condiciones de pH. Ello coincide con los resultados de este estudio (pH 5,68), aunque en otro tipo de suelo.

Por su parte García-Rubido (2017), al evaluar la respuesta de *C. ensiformis* a la inoculación con *R. intraradices*/INCAM-11, *F. mosseae*/INCAM-2, *G. cubense*/INCAM-4 y *Glomus claroideum*/INCAM-8, en un suelo Ferralítico amarillento rojizo lixiviado con menor acidez (pH-KCl 5,5 y pH-H₂O 6,2), encontraron la mayor respuesta con la inoculación de *G. cubense*/INCAM-4, lo que corrobora la efectividad de estas cepas de HMA en función del ambiente edáfico y el pH.

El índice de eficiencia de las especies de micorrizas varió entre 59,0 y 90,8 %. Este índice debe ser tomado en cuenta en cualquier análisis de la efectividad hongo/planta hospedera, ya que muestra cómo puede influir sobre el rendimiento la simbiosis, en relación con el testigo. Las cepas con mayor índice de eficiencia resultaron *F. mosseae* y *R. intraradices*.

Los estudios de comparación de cepas en Cuba demostraron la existencia de una alta especificidad especie HMA eficiente-tipo de suelo (Rivera y Fernández, 2003), lo que pudiera corroborar el com-

Tabla 1. Rendimiento de biomasa seca aérea (BSA) e índice de eficiencia micorrízica (IE).

Tratamiento	Rendimiento BSA(t ha ⁻¹)	IE (%)
<i>F. mosseae</i> /INCAM-2	8,30 ^a	90,80
<i>G. cubense</i> /INCAM-4	6,92 ^b	59,00
<i>R. intraradices</i> /INCAM-11	7,80 ^a	79,30
Testigo	4,35 ^c	-
EE ±	0,100*	-

a, b, c: letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas a $p \leq 0,05$.

* $p < 0,05$

portamiento, en este tipo de suelo, de las diferentes especies evaluadas.

Las especies del género *Glomus* tienen un amplio rango de distribución funcional y predominan en ecosistemas de alta y media fertilidad, donde son eficientes y competitivas. Los resultados en Cuba permitieron extender este rango a condiciones de baja y muy baja fertilidad (Rivera y Fernández, 2003); dicha eficiencia prevaleció en las condiciones de este trabajo, donde las cepas superaron al testigo.

Simó-González *et al.* (2016) reportaron, en un suelo Pardo mullido carbonatado con pH 7,3-7,5, un rendimiento de 6 t ha⁻¹ y una alta extracción de nutrientes por la canavalia inoculada con *R. intraradices*/INCAM-11 cuando la siembra se realizó en el período lluvioso, lo que indica una adaptación de este género a diferentes tipos de suelos.

El porcentaje de proteína bruta y la extracción de macronutrientes se muestran en la tabla 2. Aunque no hubo diferencias significativas, la proteína bruta fue superior numéricamente en *F. mosseae*/INCAM-2, *G. cubense*/INCAM-4 y *R. intraradices*/INCAM-11.

Las extracciones de nitrógeno y potasio fueron superiores en la inoculación con *F. mosseae*/INCAM-2, que difirieron estadísticamente del resto; en orden le siguieron *R. intraradices*/INCAM-11 y *G. cubense*/INCAM-4, sin diferencias entre ellas. En cuanto al fósforo, no hubo diferencias significativas entre las cepas. Para cualquiera de los nutrientes el testigo siempre presentó un comportamiento significativamente inferior al obtenido con la inoculación de las especies, las cuales, como mínimo, duplicaron las extracciones del primero.

Los HMA mejoran la extracción de nutrientes desde el suelo y su eficiencia (Bitterlich y Franken, 2016), lo que trae consigo mayores exportaciones, y ello pudiera indicar la necesidad de buscar alterna-

tivas para restituirlos al suelo; sin embargo, diferentes autores consideran que las micorrizas actúan de forma dirigida en la absorción de nutrientes.

Al respecto Rivera y Fernández (2003), en experimentos realizados en suelos Ferralítico Rojo y Pardo con carbonatos, encontraron que la simbiosis micorrízica incrementó directamente la absorción de los tres macronutrientes primarios, a través del aumento en la concentración de estos nutrientes; dicha información indica que la micorrización, más que presentar una preferencia por uno u otro elemento, se comportó como un mecanismo que permitió a las plantas obtener sus requerimientos nutricionales, en dependencia de la disponibilidad de nutrientes en el sistema.

Además, se conoce que los HMA no solo mejoran la extracción de nutrientes del suelo, sino que también reducen las pérdidas de estos por lavado (Bender *et al.*, 2015); ello refuerza la posibilidad de que aumente la extracción de nutrientes por dichos hongos, al quedar los iones disponibles para la red micelial en el suelo, aunque los mecanismos que subyacen bajo este fenómeno no están plenamente establecidos (Cavagnaro *et al.*, 2015). No obstante, resulta lógico pensar que la exploración de un mayor volumen de suelo, las extensas redes de micelios externos que se forman, así como la efectiva captación de nutrientes y la inmovilización de diversos iones en las plantas y en los tejidos fúngicos resultan algunos de los mecanismos clave para reducir el lavado de P y N a través de los HMA (Cavagnaro, 2015).

El micelio extraradical de los hongos micorrízicos tiene la capacidad de tomar NH₄⁺, NO₃⁻ y N orgánico del suelo (Pérez-Tienda *et al.*, 2014), lo que pudo influir en las diferencias encontradas en la extracción de nitrógeno por la planta. Las leguminosas son plantas que responden más vigorosamente a la inoculación con HMA, y una mayor

Tabla 2. Contenido de proteína bruta y extracción de macronutrientes.

Tratamiento	PB (%)	Macronutrientes (kg ha ⁻¹)		
		N	P ₂ O ₅	K ₂ O
<i>F. mosseae</i> /INCAM-2	19,16	254,73 ^a	32,26 ^a	210,96 ^a
<i>G. cubense</i> /INCAM-4	18,40	203,70 ^b	31,46 ^a	149,20 ^b
<i>R. intraradices</i> /INCAM-11	17,60	218,43 ^b	30,43 ^a	148,60 ^b
Testigo	17,31	120,43 ^c	15,03 ^b	77,00 ^c
EE ±	0,076	0,176*	0,132*	0,150*

a, b, c: letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

* $p < 0,05$

asociación de las hifas facilita el incremento en la transferencia de nutrientes (Martín *et al.*, 2010). Este planteamiento confirma los resultados favorables alcanzados en las plantas inoculadas con las cepas de micorrizas respecto al testigo, al evaluar las extracciones de N, P y K.

García-Rubido *et al.* (2017), al estudiar la inoculación con diferentes cepas de hongos micorrízicos en *C. ensiformis*, en un suelo Ferralítico amarillento rojizo lixiviado con pH de 5,5 y 1,23 % de MO, lograron una respuesta significativa, con los mayores contenidos de nutrientes NPK (264,9 kg N ha⁻¹; 37,6 kg P ha⁻¹; 226,7 kg K ha⁻¹, respectivamente) en relación con el testigo sin inocular.

En un suelo arcilloso ligeramente ácido, con un nivel medio en materia orgánica y bajo en fósforo disponible, Puertas *et al.* (2008) determinaron el rendimiento de materia seca y la extracción de macronutrientes en *C. ensiformis* utilizada como cobertura del suelo, y reportaron un rendimiento de 4,59 t ha⁻¹ (inferior al alcanzado en este trabajo) y una extracción de 173,68; 36,31 y 82,15 kg ha⁻¹, respectivamente, de N, P₂O₅ y K₂O, inferior en nitrógeno y potasio, pero discretamente superior en P₂O₅.

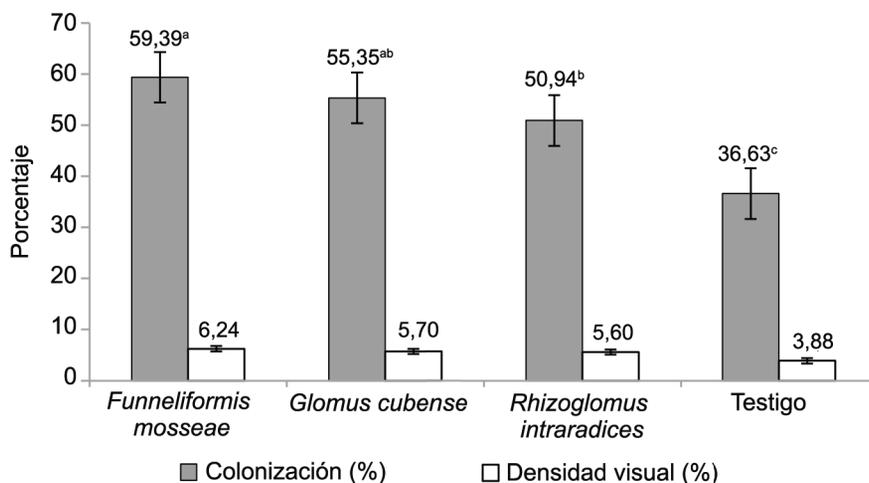
La habilidad de los HMA para incrementar la captación de nutrientes a través de la red de micelios externos ofrece una estrategia interesante para limitar el uso ineficiente del N aplicado a los cultivos, según plantearon Verzeaux *et al.* (2017). De acuerdo con estos autores, los HMA pueden desempeñar un papel importante en el reciclaje de

N, al variar la disponibilidad de N mineral en el suelo a través de cambios en la composición de la comunidad microbiana de la rizosfera, y de esta forma modifican el desarrollo de la desnitrificación, de la nitrificación y de las bacterias diazotróficas simbióticas o de vida libre.

Plana-Llerena *et al.* (2016), al evaluar la producción de forraje a base de triticale (*x. Triticosecale* Wittmack) en un suelo Nitisol ferrálico lúxico, con dosis variables de nitrógeno e inoculación con HMA, determinaron que estos últimos tuvieron una relación directa y significativa con la absorción de nutrientes. Es decir, que la cantidad de nutrientes que se recupera en la biomasa de la MS del forraje cuando se emplean los HMA es superior.

La colonización fúngica y la densidad visual de la colonización se muestran en la figura 1. *F. mosseae*/INCAM-2 y *G. cubense*/INCAM-4 alcanzaron los mayores porcentajes de colonización de raicillas, aunque esta última no difirió de *R. intraradices*/INCAM-11; las tres cepas superaron el 50 % de colonización. El testigo mostró un 43,12 % de colonización, lo que indica la presencia de micorrizas residentes que colonizan las raíces, aunque en un nivel más bajo.

Con respecto a la densidad visual no hubo diferencia entre las cepas inoculadas y superaron a la densidad del testigo; de acuerdo con lo planteado por Herrera-Peraza *et al.* (2004) están en la categoría 2 y 3 (mayor que 2 y menor que 15,5 %).



Letras distintas indican diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Figura 1. Colonización del hongo y densidad visual de las raíces.

C. ensiformis fue evaluada por Ojeda *et al.* (2014) en condiciones similares de suelo, en la cuenca pecuaria El Tablón, y resultó micorrizada de forma natural, aunque en niveles bajos (24-13 %); la densidad visual fue de 2,60 y 1,14 % en el primer y segundo muestreo, respectivamente. Ello hace suponer la existencia de un suelo perturbado, donde las micorrizas residentes no tuvieron una alta incidencia en el hospedero de referencia, por lo que los autores coincidieron en la necesidad de probar especies de micorrizas arbusculares introducidas.

En un experimento basado en un microcosmo compartimentado, se demostró que el N marcado transferido de la materia orgánica a los tejidos de las plantas vía hifas extraradicales del hongo resultó en una mayor biomasa de la planta, así como en más alto contenido de N/P en los tejidos (Thirkell *et al.*, 2016). Este novedoso hallazgo sugiere que los HMA pudieran desempeñar un importante papel no solo en mejorar la captación de nutrientes, sino también en diversificar las fuentes a partir de las que estos son adquiridos, como señalan Thirkell *et al.* (2017).

La inclusión de HMA en los sistemas de fertilización para los pastos y cultivos forrajeros resulta una vía efectiva para mejorar su rendimiento y valor nutricional, pues los beneficios de estos microorganismos en los agroecosistemas de pastizales están muy ligados al aumento de la superficie de absorción de las raíces y, consecuentemente, a la mejora en la eficiencia de utilización de los nutrientes por las plantas (Zhang *et al.*, 2016).

Se concluye que las diferentes cepas de HMA inoculadas superaron al testigo en el rendimiento de masa seca, proteína bruta y extracción de macronutrientes del suelo, aunque la mayor efectividad se encontró con la inoculación de la cepa *F. mosseae*/INCAM-2. Asimismo, se evidenció que es factible utilizar cepas eficientes de HMA como alternativa biológica de nutrición en *C. ensiformis*.

Referencias bibliográficas

Azcón-Aguilar, C. & Barea, J. M. Nutrient cycling in the mycorrhizosphere. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 15 (2):372-396, 2015.

Bender, S. F.; Conen, F. & Heijden, M. G. A. van der. Mycorrhizal effects on nutrient cycling, nutrient leaching and N₂O production in experimental grassland. *Soil Biol. Biochem.* 80:283-292, 2015.

Bitterlich, M. & Franken, P. Connecting polyphosphate translocation and hyphal water transport points to a key of mycorrhizal functioning. *New Phytol.* 211:1147-1149, 2016.

Cavagnaro, T. R.; Bender, S. F.; Asghari, H. R. & Heijden, M. G. A. van der. The role of arbuscular mycorrhizas in reducing soil nutrient loss. *Trends Plant Sci.* 20:283-290, 2015.

García-Rubido, Milagros; Rivera-Espinosa, R.; Cruz-Hernandez, Yoanna; Acosta-Aguilar, Yensi & Ramón-Cabrera, J. Respuesta de *Canavalia ensiformis* (L.) a la inoculación con diferentes cepas de hongo micorrízico arbuscular en un suelo FARL. *Cultivos Tropicales.* 38 (1):7-12, 2017.

Giovannetti, M. & Mosse, B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* 84:489-500, 1980.

Hernández-Jiménez, A.; Pérez-Jiménez, J. M.; Bosch-Infante, D. & Castro-Speck, N. *Clasificación de los suelos de Cuba.* Mayabeque, Cuba: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, Instituto de Suelos, Ediciones INCA, 2015.

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.

Martín, Gloria M.; Arias, Lianne & Rivera, R. Selección de las cepas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) más efectivas para la *Canavalia ensiformis* cultivada en suelo Ferralítico Rojo. *Cultivos Tropicales.* 31 (1):27-31, 2010.

Nazeri, N. K.; Lambers, H.; Tibbett, M. & Ryan, M. H. Moderating mycorrhizas: arbuscular mycorrhizas modify rhizosphere chemistry and maintain plant phosphorus status within narrow boundaries. *Plant Cell Environ.* 37:911-921, 2014.

Ojeda, L.; Furrázola, E. & Hernández, C. Micorrizas arbusculares en leguminosas de la empresa pecuaria El Tablón, Cuba. *Pastos y Forrajes.* 37 (4):392-398, 2014.

ONN. *Determinación de las formas móviles de potasio y fósforo.* NC-ISO 52. La Habana: Oficina Nacional de Normalización, 1999c.

ONN. *Determinación de materia orgánica en suelo.* NC-ISO 51. La Habana: Oficina Nacional de Normalización, 1999b.

ONN. *Determinación del pH.* NC-ISO 10390. La Habana: Oficina Nacional de Normalización, 1999a.

Pérez-Tienda, J.; Corrêa, A.; Azcón-Aguilar, C. & Ferrrol, N. Transcriptional regulation of host NH₄⁺ transporters and GS/GOGAT pathway in arbuscular mycorrhizal rice roots. *Plant Physiol. Bioch.* 75:1-8, 2014.

Petipas, Renee H.; González, J. B.; Palmer, T. M. & Brody, Alison K. Habitat-specific AMF symbiosis enhance drought tolerance of a native Kenyan grass. *Acta Oecol.* 78:71-78, 2017.

- Phillips, J. M. & Hayman, D. S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment to infection. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 55:158-161, 1970.
- Plana-Llerena, R. R.; González-Cañizares, P. J.; Rivera-Espinosa, R.; Varela-Nualles, M. & Álvarez-Gil, Marta. Producción de forraje a base de Triticale (x. triticosecale Wittmack) en suelo Nitisol Ferrálico Lítico, con dosis variables de nitrógeno e inoculación con hongos micorrízicos arbusculares. *Cultivos Tropicales.* 37 (2):22-23, 2016.
- Puertas, F.; Arévalo, E.; Zúñiga, L.; Alegre, J.; Loli, O.; Soplin, H. *et al.* Establecimiento de cultivos de cobertura y extracción total de nutrientes en un suelo de trópico húmedo en la Amazonía peruana. *Ecología Aplicada.* 7 (1-2):23-28, 2008.
- Rivera-Espinosa, R. & Fernández, Kalyanne Bases científico-técnicas para el manejo de los sistemas agrícolas micorrizados eficientemente. En: R. Rivera y K. Fernández, eds. *El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: El Caribe.* San José de las Lajas, Cuba: Ediciones INCA. p. 49-94, 2003.
- Rivera-Espinosa, R.; Martín-Alonso, Gloria; Simó-González, J.; Pentón-Fernández, Gertrudis; Joao, J. P.; García-Rubido, Milagros *et al.* Bases y beneficios del manejo conjunto de *Canavalia ensiformis* e inoculantes micorrízicos arbusculares en los sistemas de suministro de nutrientes de diferentes cultivos. San José de las Lajas, Cuba: Ediciones INCA, 2017.
- Rodríguez, Y.; Dalpé, Y.; Séguin, S.; Fernández, K. & Rivera, R. *Glomus cubense* sp. nov. an arbuscular mycorrhizal fungus from Cuba. *Micotaxon.* 118 (1):337-347, 2011.
- Rosales-Jenqui, P. R.; González-Cañizares, P. J.; Ramírez-Pedroso, J. F. & Arzola-Batists, J. Selección de cepas eficientes de hongos micorrízicos arbusculares para el pasto guinea (*Megathyrsus maximus* cv. Likoni). *Cultivos Tropicales.* 38 (1):24-30, 2017.
- Schüßler, A. & Walker, C. Evolution of the 'Plant-Symbiotic' Fungal Phylum Glomeromycota. Evolution of fungi and fungal-like organisms. In: S. Pöggeler and J. Wöstemeyer, eds. *The Mycota XIV.* Heidelberg, Germany: Springer-Verlag. p. 163-585, 2011.
- Sieverding, E.; Silva, G. A. da; Berndt, R. & Oehl, F. *Rhizoglosum* a new genus of the Glomeraceae. *Mycotaxon.* 129 (2):373-386, 2014.
- Simó-González, J. E.; Rivera-Espinosa, R.; Ruiz-Martínez, L. A. & Espinosa-Cuellar, E. Necesidad de reinoculación micorrízica en el trasplante del banano en áreas con precedente de *canavalia* inoculada con HMA. *Centro Agrícola.* 43 (2):28-35, 2016.
- Siqueira, J. O.; Colozzi-Filho, A.; Oliveira, E. de; Fernandes, A. B. & Florence, M. L. Micorrizas vesicular-arbusculares em mudas de cafeeiro produzidas no Sul do Estado de Minas Gerais. *Pesq. Agrop. Bras.* 22 (1):31-38, 1987.
- Thirkell, T. J.; Cameron, D. D. & Hodge, Angela. Resolving the 'nitrogen paradox' of arbuscular mycorrhizas: fertilization with organic matter brings considerable benefits for plant nutrition and growth. *Plant Cell Environ.* 39 (8):1683-1690, 2016.
- Thirkell, T. J.; Charters, M. D.; Elliott, A. J.; Sait, S. M. & Field, Katie J. Are mycorrhizal fungi our sustainable saviours? Considerations for achieving food security. *J. Ecol.* 105:921-929, 2017.
- Verzeaux, J.; Hirel, B.; Dubois, F.; Lea, P. J. & Tétu, T. Agricultural practices to improve nitrogen use efficiency through the use of arbuscular mycorrhizae: Basic and agronomic aspects. *Plant Science.* 264:48-56, 2017.
- Weremijewicz, J. & Seto, K. Mycorrhizas influence functional traits of two tallgrass prairie species. *Ecol. Evol.* 16 (12):3977-3990, 2016.
- Zhang, L.; Xu, M.; Liu, Y.; Zhang, F.; Hodge, Angela & Feng, G. Carbon and phosphorus exchange may enable cooperation between an arbuscular mycorrhizal fungus and a phosphate-solubilizing bacterium. *New Phytol.* 210:1022-1032. <https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/nph.13838>. [10/03/2018], 2016.

Recibido el 25 de enero del 2018

Aceptado el 18 de julio del 2018