

**Respuesta de la *Canavalia ensiformis* (L) D.C. ante la coinoculación de *Rhizobium* y hongos micorrízicos arbusculares.**

**Ansewer of the *Canavalia ensiformis* (L) D.C. co-inoculation with *Rhizobium* and arbuscular mycorrhizal fungi.**

**Autores:** M Sc. Yonger Tamayo-Aguilar<sup>1</sup>, Dra. Gloria M.-Alonso<sup>2</sup>, Ing. Yordanis Corona-Ramírez<sup>1</sup>, Dr. C. Fernando Vicente Barraza-Alvarez<sup>3</sup>

**Organismo:** Facultad Agroforestal, Universidad de Guantánamo, El Salvador, Guantánamo, Cuba<sup>1</sup>. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), Cuba<sup>2</sup>. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad de Córdoba, Montería, Córdoba, Colombia<sup>3</sup>.

**E-mail:** [yongertamayo@cug.co.cu](mailto:yongertamayo@cug.co.cu), [gloriam@inca.edu.cu](mailto:gloriam@inca.edu.cu)

**Teléf.** 5353595072, 5321294323

**Resumen.**

Con el objetivo de evaluar la respuesta de la *Canavalia ensiformis* (L.) D.C a la coinoculación *Rhizobium* – hongos micorrízicos arbusculares, se realizó un diseño experimental de bloques al azar con arreglo bifactorial en un suelo Pardo Sialítico Mullido Carbonatado en la provincia Guantánamo durante los meses abril - julio de 2012. Los aislados de *Rhizobium* fueron Can 2, 3, 4 y Can 5 y las cepas utilizadas fueron: *Glomus cubense* y *Rhizophagus intraradices*. Se evaluó los nódulos totales, masa seca y funcionabilidad de los nódulos así como la colonización micorrízica, densidad visual y número de esporas. Los resultados mostraron que *Canavalia* tuvo respuesta a la coinoculación *Rhizobium*, con mayor significación en la combinación de *Rhizobium* y *Rhizophagus intraradices*, destacándose la combinación del aislado Can 5 y la cepa de *Rhizophagus intraradices*, manifestándose como las mejores cepas para la *Canavalia* en este tipo de suelo.

**Palabras clave:** *Canavalia ensiformis*; hongos micorrízicos arbusculares; *Rhizobium*; *Rhizophagus intraradices*; *Glomus cubense*.

**Abstract.**

With the target to evaluate the answer of the *Canavalia ensiformis* (L.) D.C to the coinoculation *Rhizobium* - arbuscular mycorrhizal fungi, a design was realized to experiment of blocks at random with arrangement bifactorial on a Brown soil Sialitic Mullido Carbonated in the province Guantanamo during the months April - July, 2012. Isolated of *Rhizobium* 2, 3, 4 and Dog were a Dog 5 and the vines of used were: *Glomus cubense* and *Rhizophagus intraradices*. The entire nodules, dry air mass was evaluated and funcionability of the nodules as well as the mycorrhizal colonization, visual density and number of spores. The results showed that *Canavalia* had answer to the coinoculation *Rhizobium* - HMA, with greatest significance in the combination of *Rhizobium* and *Rhizophagus intraradices*, standing out the combination of the isolated Dog 5 and the vine of *Rhizophagus intraradices*, the *Canavalia* being evident like the best vines for in this type of soil.

**Keywords:** *Canavalia ensiformis*; arbuscular mycorrhizal fungi; *Rhizobium*; *Rhizophagus intraradices*; *Glomus cubense*.

## Introducción.

La fijación biológica del nitrógeno (FBN) es uno de los fenómenos de mayor importancia en la naturaleza, pues representa la utilización de un gas inerte como fuente de vida para un grupo de microorganismos. Este elemento fijado en el suelo puede ser utilizado directa o indirectamente por plantas de interés agrícola y forestal, a través de sus relaciones simbióticas con los microorganismos diazotróficos, constituyendo el mecanismo de compensación de las pérdidas del elemento en forma gaseosa por las acciones que ejercen las poblaciones microbianas (Jiménez y Peña, 2000).

Una forma sostenible de incorporar N<sub>2</sub> a los sistemas agrícolas es la inserción dentro de las rotaciones de cultivos plantas que establezcan simbiosis con bacterias fijadoras de nitrógeno presentes en el suelo, capaces de realizar la fijación biológica de nitrógeno. Entre estos tipos de plantas se encuentran las leguminosas, que se emplean como abonos verdes, idóneas de mantener o mejorar las características físicas, químicas y biológicas del suelo, lo cual es importante desde el punto de vista de ahorro de fertilizantes nitrogenados y de la reducción de los costos de producciones (Martínez *et al.*, 2007).

En las condiciones de Cuba, *Canavalia ensiformis*, es capaz de aportar más de 150 kg.ha<sup>-1</sup> de N y hasta 5 t.ha<sup>-1</sup> de masa seca, además de elevar sosteniblemente los rendimientos de cultivos tan diversos como maíz, papa, calabaza, malanga, entre otros (García *et al.*, 2002). Al mismo tiempo, los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), unidos con los rizobios son vías que permiten mejorar el desarrollo de los cultivos, cuando interactúan con las plantas creando simbiosis entre sí, los cuales están presentes en cerca del 95% de los cultivos agrícolas y pueden aumentar los procesos de absorción y traslocación de nutrientes en las plantas (Rivera y Fernández, 2003).

Desde el punto de vista productivo en la provincia Guantánamo ha sido poco estudiado el uso de especies de abonos verdes como fuente alternativa de reciclajes de nutrientes, que permitan mejorar las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, en conjunto con la coinoculación de bacterias del género *Rhizobium* y hongos micorrízicos arbusculares.

Sobre la base de lo que se expone y en aras de aprovechar los beneficios que brinda el empleo de esta práctica, se propone como objetivo: Evaluar la respuesta de *Canavalia* a la coinoculación de aislados de *Rhizobium* sp. y cepas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en un suelo Pardo Sialítico Mullido Carbonatado”.

## Desarrollo.

### Materiales y métodos

Para alcanzar el objetivo propuesto se llevó a cabo un experimento de campo en el polígono docente de la Facultad Agroforestal de Montaña situado, en el km 6 ½, carretera Guantánamo - El Salvador, perteneciente a la Universidad Guantánamo, en el período lluvioso (abril a julio de 2012) que coincide con la época de primavera, sobre un suelo Pardo Sialítico Mullido Carbonatado (MINAG, 1999). Las características químicas principales del suelo se observan en la tabla 1.

Tabla 1. Algunas características químicas de la capa arable del suelo al inicio del experimento (0 - 20 cm de profundidad).

pH H <sub>2</sub> O	MO (%)	P (mg.kg <sup>-1</sup> )	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>+</sup>
6,9	3,04	216	(cmol. kg <sup>-1</sup> )			
			0,56	0,61	40,0	12,5

Determinaciones químicas:

pH H<sub>2</sub>O potenciómetro: relación suelo/solución de 1:2,5; MO (materia orgánica) Walkley Black, P: solución 0.1 N de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> con relación suelo-solución 1: 25, Cationes NH<sub>4</sub>Ac a pH 7 según Paneque *et al.* (2010).

### Diseño experimental y análisis estadístico

Se empleó un diseño de bloques al azar con arreglo bifactorial y cuatro réplicas. Se estudiaron cinco niveles del factor inoculación de *Rhizobium* (cuatro aislados de *Rhizobium* más un tratamiento sin inoculación) y tres niveles del factor inoculación micorrízica (dos cepas y un testigo sin inoculación), para un total de quince tratamientos.

Para el procesamiento estadístico se comprobó la normalidad de los datos mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov y la homogeneidad de la varianza por la prueba de Levene, los cuales cumplieron con este requisito. Para la determinación de las diferencias entre los tratamientos se utilizó la dócima de comparación de Rangos Múltiples de Duncan para  $p \leq 0,05$ , mediante el paquete estadístico STATGRAPHICS PLUS versión 5,1.

### Métodos de inoculación de los biofertilizantes empleados

Como inoculantes micorrízicos se utilizaron las cepas *Glomus cubense* (Y. Rodr. y Dalpé), INCAM- 4 (Rodríguez *et al.*, 2011) y *Glomus intraradices* (Smith y Schenck), INCAM- 11, que recientemente se reclasificó taxonómicamente por Schüßler y Walker (2011) como *Rhizophagus intraradices*, procedentes de la colección de hongos micorrízicos arbusculares (HMA), del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA).

Como inoculante bacteriano se utilizaron cuatro aislados de *Rhizobium* (Can 2, Can 3, Can 4 y Can 5), aislados por Hernández *et al.* 2012. Los aislados provienen de nódulos de *Canavalia* y pertenecen a la colección de cepas de rizobios del Departamento de Fisiología del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), se utilizaron a una concentración de 10<sup>7</sup> a 10<sup>8</sup> UFC.g<sup>-1</sup>.

La coinoculación de estos biofertilizantes se realizó en el momento de la siembra, por el método de recubrimiento de las semillas (Metodologías descritas por Fernández *et al.*, 2000) utilizando una dosis de 5.95 kg.ha<sup>-1</sup> de EcoMic<sup>®</sup>, equivalente al 10 % del peso de las semillas y 100 g de cada inoculante bacteriano.

### Evaluaciones realizadas y metodologías empleadas

Todas las variables se evaluaron a los 70 días después de la germinación

✓ **Evaluación de la nodulación por *Rhizobium***

- Número de nódulos totales (u): se procedió al conteo visual de la cantidad de nódulos presentes en la raíz de las plantas muestreadas.
- Funcionabilidad de los nódulos (%): mediante un corte transversal, se determinó los nódulos efectivos, seleccionando los de color rojo - rosado presentes en las raíces de las plantas.
- Masa seca de los nódulos totales (g. planta<sup>-1</sup>): se determinó a través de una balanza digital.

✓ **Colonización radical**

La determinación de la colonización micorrízica se utilizó la metodología descrita por Phillips y Hayman (1970) y la evaluación se realizó por el método de los interceptos, desarrollado por Giovanetti y Mosse (1980).

✓ **Densidad Visual**

La determinación del porcentaje de Densidad Visual (% DV) se realizó por la metodología de Trouvelot *et al.* (1986), mediante la cual se evaluó la ocupación fúngica de cada intercepto.

✓ **Conteo de esporas de hongos micorrizicos arbusculares**

El conteo de esporas se realizó en muestras de 50 g de suelo de la rizósfera de las plantas colectadas, según el método de extracción descrito por Gerdeman y Nicolson (1963), modificado por Herrera *et al.* (1995).

**Resultados y discusión**

**Nodulación de *Canavalia* a los 70 días después de germinada**

La tabla 2 muestra la interacción entre los factores en estudio (*Rhizobium* - HMA) en la nodulación de *Canavalia*. Se observaron respuestas significativas de las variables a la coinoculación de ambos microorganismos, con efecto superior la cepa *R. intraradices* con respecto a la cepa *G. cubense* y el testigo sin inocular, destacándose en este sentido la combinación de *R. intraradices* con el aislado Can 5. En este tratamiento se observó una relación de 983,66 de nódulos totales así como 99,88% de la funcionabilidad de los nódulos y 53,86 de masa seca de los nódulos en el período evaluado.

La nodulación de *Canavalia* con inoculación simple de *Rhizobium* fue alta, sin embargo es inferior con respecto a los tratamientos coinoculados, debido al efecto beneficioso ejercido por la asociación tripartita.

Por otra parte los compuestos exudados por las raíces de la *Canavalia* (flavonoides, compuestos fenólicos, aminoácidos, entre otros) propician la proliferación de los rizobios en la rizosfera, lográndose la adherencia y la colonización de las raicillas, la formación de los nódulos y su posterior efecto positivo (Martínez - Viera y Dibut, 2012).

Tabla 2. Efecto de la coinoculación de *Rhizobium* y HMA en la nodulación de *Canavalia*.

Tratamientos		Nódulos totales (u)	Masa nódulos (g por planta)	Funcionabilidad (%)
Sin HMA	R0	433,66k	19,93j	95,16
	R2	528,66i	26,8gh	96,54

	R3	555,0h	27,83g	97,32
	R4	506,33j	23,3i	97,84
	R5	585,33g	29,33fg	98,43
<b>Glomus cubense</b>	R0	510,66ij	23,763hi	96,37
	R2	621,33f	31,53f	97,12
	R3	587,66g	28,43fg	98,43
	R4	650,33de	37,8de	98,50
	R5	670,0cd	39,9cd	98,90
<b>Rhizophagus intraradices</b>	R0	642,33ef	36,13e	98,12
	R2	664,66cd	39,16de	98,90
	R3	684,66c	42,96c	98,87
	R4	787,33b	47,23b	98,49
	R5	983,66a	53,86a	99,98
<b>Es <math>\chi</math></b>		<b>7,31*</b>	<b>1,07*</b>	

\*Medias con letras distintas en la misma columna difieren entre sí, según prueba de Rangos múltiples de Duncan ( $p \leq 0.05$ ). R0: sin Rhizobium, R2, R3, R4 y R5: aislados de *Rhizobium* (Can 2, Can 3, Can 4 y Can 5 respectivamente). ddg: días después de la germinación.

Resultados similares fueron obtenidos por Corbera y Nápoles (2013), quienes encontraron respuestas significativas en las variables número, masa seca y efectividad de los nódulos en los tratamientos evaluados en el cultivo de la soya, destacándose aquellos donde se aplicó la coinoculación *Bradyrhizobium elkanii* - HMA, enfatizando que la aplicación de las micorrizas arbusculares propició un mayor efecto de las bacterias de rizobios, dado por un incremento en el número de nódulos y la masa seca de los mismos en comparación con el testigo absoluto.

Por otra parte, Claudia *et al.* (2008), informaron que las interacciones simbióticas con los hongos micorrízicos resulta beneficiosa para las leguminosas, cuyo requerimiento de fósforo es importante para el desarrollo de la nodulación y el crecimiento en estas plantas.

### **Efecto de la coinoculación de *Rhizobium* y HMA sobre la colonización micorrízica y la densidad visual para *Canavalia* a los 70 días después de germinada**

En la tabla 3, se observa una marcada tendencia a valores superiores de colonización y densidad visual en tratamientos inoculados con cepas de HMA, con respecto a aquellos sin inoculación micorrízica. En todos los casos, los porcentajes de colonización presentan valores por encima del 30% y en los tratamientos más destacados, alcanzan valores superiores al 60%. Igualmente la densidad visual, indicador que describe el grado de intensidad con la que el hongo coloniza la raíz, alcanzó un valor de 9,47 % en los tratamientos inoculados. En este caso, *R. intraradices* en combinación con el aislado Can 5, mostró los mejores resultados de colonización micorrízica y densidad visual con valores de 81,73 y 9,47% para este período.

Este comportamiento pudo estar determinado por la especificidad que se estableció entre el tipo de suelo y el HMA, lo que produjo un mayor grado de compatibilidad entre los simbiontes, lo cual parece indicar que *R. intraradices* de conjunto con el aislado Can 5 sean las más eficientes en estas condiciones.

Tabla 3. Efecto de la interacción de *Rhizobium* y HMA sobre la colonización micorrízica y la densidad visual para *Canavalia* en el período evaluado.

Tratamientos		Período lluvioso	
		Colonización (%)	Densidad visual (%)
<b>Sin HMA</b>	R0	56,53f	2,34j
	R2	49,20g	3,5hij
	R3	59,43ef	4,11ghi
	R4	44,04g	2,77hi
	R5	64,77cde	4,81fgh
<b><i>Glomus cubense</i></b>	R0	61,78def	5,14efg
	R2	62,25def	5,87def
	R3	56,08f	5,93def
	R4	56,46f	4,73fgh
	R5	67,66cd	5,87def
<b><i>Rhizophagus intraradices</i></b>	R0	70,62bc	7,76b
	R2	67,00cd	6,97bc
	R3	74,58b	6,89bc
	R4	64,73cde	6,58bcd
	R5	81,73a	9,47a
Es $\chi$		2,26*	0,50*

\*Medias con letras distintas en la misma columna difieren entre sí, según prueba de Rangos múltiples de Duncan ( $p \leq 0.05$ ). R0: sin *Rhizobium*, R2, R3, R4 y R5: aislados de *Rhizobium* (Can 2, Can 3, Can 4 y Can 5 respectivamente). ddg: días después de la germinación.

Los resultados encontrados en esta investigación están en similitud con los obtenidos por Marrero (2010), cuando evaluó la colonización micorrízica de *G. intraradices* en suelos Pardos Mullidos Carbonatados y encontró porcentajes de colonización micorrízica entre 66 y 70%, valores que indicaron una micorrización efectiva.

En estudios realizados por Martín (2009), sobre indicadores del funcionamiento de la simbiosis micorrízica de *Canavalia* en suelos Ferralíticos Rojos Lixiviados, observó un efecto diferenciado de la inoculación con cepas de HMA sobre los porcentajes de colonización micorrízica y de la densidad visual en las raíces de *Canavalia*.

Investigaciones realizadas por González *et al.* (2012), en la coinoculación de cepas de *Rhizobium* y una cepa de hongo micorrízico arbuscular (*Glomus cubense*) en suelo Ferralítico Rojo Lixiviado, informaron que los tratamientos inoculados con *G. cubense* mostraron incrementos de la colonización micorrízica, la densidad visual y la densidad de esporas en la rizosfera de las plantas, significativamente mayores que los no inoculados, al mismo tiempo, estas variables fúngicas alcanzaron valores más altos cuando la inoculación de *G. cubense* se combinó con una u otra cepa de *Rhizobium*.

Número de esporas de HMA en la rizosfera de *Canavalia* a los 70 días después de la germinación.

En la Figura 1, se aprecian los valores obtenidos de número de esporas en 50 g de suelo presente en la rizosfera de Canavalia a los 70 días después de germinada, en la cual se puede observar la interacción entre los factores en estudio. De manera general existió un incremento del número de esporas en los tratamientos coinoculados con respecto al testigo sin inocular, destacándose las combinaciones de *R. intraradices* con el aislado Can 5 alcanzando un valor de 1 237 esporas por 50 g de suelo.

Este indicador logró reflejar los efectos de la coinoculación de estos dos microorganismos, no solo expresado en los porcentajes de colonización y densidad visual (tabla 2), sino también en un mayor número de esporas en la rizosfera de las plantas.

Por otra parte, se evidenció que existieron cepas residentes de HMA en el suelo, que interactuar con la Canavalia inoculada con los aislados de *Rhizobium*, incrementaron su actividad simbiótica, lográndose aumentar el número de esporas en la rizosfera, probablemente debido a la interacción de la simbiosis tripartita *Rhizobium*- HMA- leguminosas, de manera que la simbiosis *Rhizobium* – leguminosas aporta el N de forma asimilable para las plantas y los HMA incrementan la absorción de otros elementos, entre ellos el P, muy importante para el proceso la FBN.

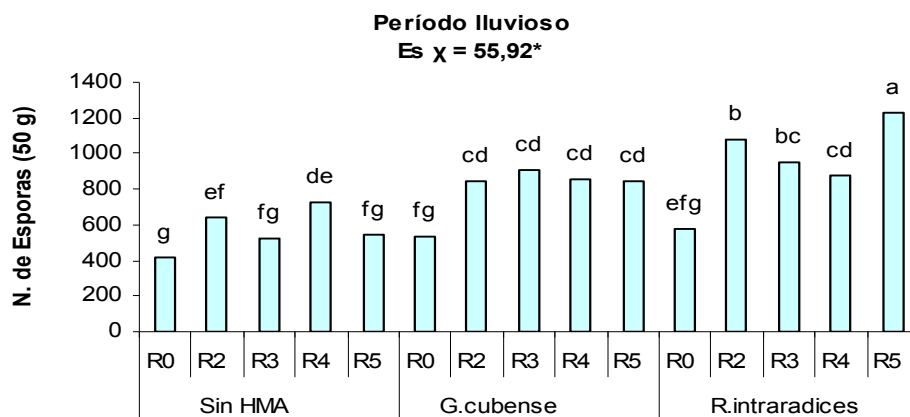


Figura 1: Número de esporas de HMA en la rizosfera de Canavalia. R0: sin *Rhizobium*, R2, R3, R4 y R5: aislados de *Rhizobium* (Can 2, Can 3, Can 4, Can 5 respectivamente). \*Medias con letras distintas difieren entre sí, según prueba de Rangos múltiples de Duncan ( $p \leq 0.05$ ).

La mayor cantidad de esporas encontradas en los tratamientos coinoculados con *Rhizobium* - HMA, específicamente la combinación del aislado Can 5 - *R. intraradices*, coincide con los resultados obtenidos por este mismo tratamiento en las variables de colonización micorrizica y densidad visual analizadas anteriormente.

Resultados similares fueron obtenidos por Bustamante *et al.* (2009) y Bustamante *et al.* (2010), quienes al inocular los aislados de *Rhizobium* Can 3 y Can 5 con *R. intraradices* y *G. cubense* en suelos Pardos sin Carbonatos, encontraron interacción entre las cepas de *Rhizobium* y de los hongos micorrízicos arbusculares con incrementos significativos en los indicadores de crecimiento de Canavalia.

Por otra parte Rivera *et al.* (2010), en el cultivo del cafeto con el empleo de los abonos verdes en suelo Fersialítico Rojo Lixiviado, plantearon que el número de esporas de los hongos micorrízicos arbusculares se incrementa significativamente en el suelo, producto del crecimiento de los abonos verdes, encontrándose una positiva relación lineal entre la masa seca de los abonos verdes a los 70 días después de germinados y las cantidades de esporas de HMA en el suelo al momento de incorporarlo.

### **Conclusiones.**

- La especie *Canavalia ensiformis* tuvo respuesta positiva a la coinoculación de *Rhizobium* sp y hongos micorrízicos arbusculares, al incrementar las variables de funcionamiento fúngico, que oscilaron entre el 81,73% de colonización radical y 9,47% de la densidad visual, así como las relacionadas con la nodulación de *Rhizobium* sp., lográndose 983,66 de nódulos totales; con 99,88% de funcionalidad de los nódulos y 53,86 de masa de los nódulos.
- El aislado Can 5 combinado con la cepa de HMA *Rhizophagus intraradices*, se comportaron como los microorganismos más eficientes para la inoculación de *Canavalia ensiformis* cultivada en suelo Pardo Sialítico Mullido Carbonatado, al garantizar los mayores acumulados de nódulos efectivos, porcentajes de colonización micorrízica, densidad visual y número de esporas.

### **Bibliografía.**

- Bustamante, C.; Pérez, A.; Viñals, R.; Rivera, R.; Pérez, G.; Rodríguez, M. (2009). Efecto de la inoculación con cepas de *Rhizobium* sobre indicadores de crecimiento y producción de masa por *Canavalia ensiformis* intercalada con cafeto en suelo Pardo de Cuba. Presentaciones. Taller Nacional de la Red Temática de Simbiosis Micorrízica. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas.
- Bustamante, C.; Rivera, R.; Pérez, G.; Viñals, R. (2010). Promoción del crecimiento de *Canavalia ensiformis* L. mediante la coinoculación de cepas de *Rhizobium* y hongos formadores de micorrizas en suelo pardo sin carbonatos. *Café y Cacao*, 9 (2), 5.
- CIDICCO. (2008). Especies utilizadas como Abono verde o Cultivo de Cobertura. Disponible en <http://www.cidicco.hn /especies/canavalia.html>.
- Corbera, J.; Nápoles, M. (2013). Efecto de la inoculación conjunta *BradyRhizobium elkanii*-hongos MA y la aplicación de un bioestimulador del crecimiento vegetal en soya (*Glycine max* (L.) Merrill), cultivar INCASOY-27. *Cultivos Tropicales*, 34 (2), 5-11.
- Fernández, N.; Ortega, L. (2000). Efecto de la edad de incorporación de dos abonos verdes sobre algunas propiedades del suelo y el rendimiento del rábano (*Raphanus sativus*). *Venesuelos*. 10(1 y 2) ,18-31.
- García, M.; Treto, E.; Álvarez, M. (2002). Época de siembra más adecuada para especies promisorias de abonos verdes en las condiciones de Cuba. *Cultivos tropicales*, 23(1), 5–14.
- G., Claudia; Castillo, R.; Rubio, H.; Urzúa, S.; B., Fernando. (2008). Interacción *Rhizobium leguminosarum* *bv trifolii* y hongos micorrízicos en un andisol con diferentes niveles de saturación de aluminio. *IDESIA*, 26(3) ,7-179. Chile.
- Gerdemann, J. W.; Nicholson, T.H. (1963). Spore of mycorrhizae endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 46, 235-244.



- Giovannetti, M.; Mosse, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.*, 84, 489 – 500.
- González, P.; Pérez, G.; Medina, N.; Crespo, G.; Ramírez, J.F.; Arzola, J. (2012). Coinoculación de cepas de rizobios y una cepa de hongo micorrízico arbuscular (*Glomus cubense*) y su efecto en kudzú (*Pueraria phaseoloides*). Nota técnica. *Ciencia Agrícola*. 46 (3), 331-334.
- Hernández, I.; Pérez, G.; García, M.; Rosales, P.; Baños, R.; Ramírez, J.F. (2012). Selección de aislados de rizobios provenientes de nódulos de la leguminosa forrajera *Canavalia ensiformis*. *Cultivos Tropicales*, 33 (3), 27-33.
- Herrera, R.A.; Ferrer, R.; Furrázola, E.; Orozco, M. O. (1995). Estrategia de funcionamiento de las micorrizas (VA) en un bosque tropical. Biodiversidad en Ibero América: Ecosistemas, Evolución y Proceso sociales, (Eds. Maximina Monasterio): Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el desarrollo. Sub – programa XII, Diversidad Biológica. Mérida, 201.
- Marrero, Y. (2010). Efecto de frecuencias de inoculación micorrízica y el laboreo sobre una secuencia de cultivos en un suelo Pardo Mullido Carbonatado. Tesis en opción al Grado de Maestro en ciencias Agrícolas. INCA. La Habana, 78.
- Martínez- Viera, R.; Dibut, A. B. (2012). Biofertilizantes bacterianos. Editorial Científico Técnica. La Habana. Cuba, 279 p.
- Martínez, R.; López, M.; Dibut, B.; Parra, C.; Rodríguez, J. (2007). La fijación del nitrógeno atmosférico en el medio tropical. Ed. MPPAT. Caracas, 190.
- Martín, G. M. (2009). Manejo de la inoculación micorrízica arbuscular, *Canavalia ensiformis* y la fertilización nitrogenada en plantas de maíz (*Zea mays*) cultivadas sobre suelos Ferralíticos Rojos de La Habana. Tesis en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. (INCA). La Habana, 101.
- MINAG. (1999). Nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba. Instituto de Suelos. La Habana. Agrinfor, 64.
- Pérez, G.; Gómez, G.; Nápoles, M.; Morales, B. (2008). Aislamiento y caracterización de cepas de rizobios aisladas de diferentes leguminosas en la región de Cascajal, Villa Clara. *Pastos y Forrajes*, 31(2), 151-159.
- Rivera, R.; Fernández, K. (2003). Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: el Caribe. Eds. INCA. La Habana, 166.
- Rivera, R.; Sánchez, C.; Caballero, D., Cupull, R.; González, C.; Urquiaga, S. (2010). Abonos verdes e inoculación micorrízica de posturas de cafeto sobre Suelos Ferralíticos Rojos Lixiviados. *Cultivos Tropicales*, 31 (3), 75-81.
- Rodríguez, Y.; Dalpé, Y.; Séguin, S.; Fernández, F.; Fernández, F.; Rivera, R. (2011). *Glomus cubense* sp nov., an arbuscular mycorrhizal fungus from Cuba. *MYCOTAXON*. 118, 337–347.
- Sánchez, C. (2001). Manejo de las asociaciones micorrízicas arbusculares y abonos verdes en la producción de posturas de cafeto en algunos tipos de suelo. Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). La Habana.
- Schüßler, A. & Walker, C. (2011). Evolution of the „Plant-Symbiotic“ Fungal Phylum, Glomeromycota. Evolution of fungi and fungal-like organisms, The Mycota XIV. Pöggeler, S. & Wöstemeyer, J. Ed Springer Verlag. Berlin Heidelberg, 163-185.

**Fecha de recibido: 27 oct. 2014**  
**Fecha de aprobado: 12 dic. 2014**