

## **Evaluación de la población de micorrizas nativas asociadas a seis cultivares de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich.) en suelo ácido**

Birmanía Wagner<sup>1</sup>, Frans Castillo<sup>2</sup>, Valeria Antigua<sup>3</sup> y Elfrida Pimentel<sup>4</sup>

### **Abstract**

Among the main problems affecting Dominican livestock are the poor quality of pastures, high raw material costs for the manufacture of concentrated foodstuffs and the lack of fertilizer culture of the pastures by the producers. This study aims to determine the presence and percentage of colonization of native mycorrhizal spores associated with cultivars of *Brachiaria brizantha*, on acid soils of a farm in Higüey, province of Altagracia, Dominican Republic. The variables studied were: spore numbers and percentage of native mycorrhizal colonization in cultivars of *Brachiaria brizantha*, in acid soils. For the study, a completely randomized design with 3 x 6 factorial arrangement and three replicates was used. The first factor was chemical, organic fertilizer based on bovine manure and a control without fertilizer. The second factor was cultivars with 6 levels, represented by *Brachiaria brizantha* cultivars: 'Piatá', 'Marandú', 'Xarae', 'Toledo', 'Mulato II' and 'Sabana'. Isolation of spores was done according to the method of Gerderman and Nicholson (1963). The staining of roots according to Phillips and Hayman (1970). The spore count in 100 grams of dry soil and percentage of colonization was analyzed with InfoStat (2015), with tests of non-parametric analysis of Kruskal Wallis. Eight morphotypes were identified, of which only the genera *Glomus* and *Acaulospora* could be classified. In the roots, no fungal structures were found to confirm the presence of mycorrhizae. There was no difference between the amount of spores associated with the cultivars.

Keywords: bovine manure, chemical fertilizer, *Brachiaria brizantha*, symbiosis, mycorrhizae

### **Resumen**

Entre los principales problemas que afectan la ganadería dominicana están la mala calidad de las pasturas, altos costos de materia prima para la fabricación de los alimentos concentrados y la falta de cultura de fertilización de los pastos por los productores. Este estudio tiene por objetivo determinar la presencia y porcentaje de colonización de esporas de micorrizas nativas asociadas a cultivares de *Brachiaria brizantha*, en suelos ácidos de una finca en Higüey, provincia la Altagracia, República Dominicana. Las variables respuestas estudiadas fueron: número de esporas y porcentaje de colonización de micorrizas nativas en cultivares de *Brachiaria brizantha*, en suelos ácidos. Para el estudio, se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3 x 6 con tres repeticiones. El primer factor fue fertilización química, orgánica a base de estiércol bovino y un testigo sin fertilizante. El segundo factor fueron los cultivares con 6 niveles, representados por los cultivares de *Brachiaria brizantha*: 'Piatá', 'Marandú', 'Xarae', 'Toledo', 'Mulato II' y 'Sabana'. El aislamiento de esporas se realizó según el método de Gerderman y Nicholson (1963). La tinción de raíces según Phillips y Hayman (1970). El conteo de esporas en 100/gramos de suelo seco y porcentaje de colonización fue analizado con InfoStat (2015), con pruebas de análisis no paramétrico de Kruskal Wallis. Se identificaron ocho morfotipos, de los cuales solo se pudo clasificar hasta los géneros *Glomus* y *Acaulospora*. En las raíces, no se encontraron estructuras de hongos que confirmaran la presencia de una micorrización. No hubo diferencias entre cantidad de esporas asociadas a los cultivares.

Palabras clave: estiércol bovino, fertilizante químico, *Brachiaria brizantha*, simbiosis, micorrizas

## **INTRODUCCIÓN**

La fertilidad del suelo es uno de los principales factores que afectan la productividad agrícola porque está directamente relacionada con la calidad nutricional de las plantas. En la República Dominicana, los ecosistemas de suelos ácidos constituyen las zonas de uso potencial para la ganadería por su amplitud en el país y por la gran cantidad de especies forrajeras que se adaptan a esas condiciones de pH (Lascano 2002).

El manejo tradicional de esos ecosistemas ha involucrado fertilización química, el uso de maquinaria para el acondicionamiento de los suelos y el establecimiento

de monocultivo, con lo cual se ha generado desgaste y erosión del mismo. Un suelo con un pH entre 5 a 6.5, generalmente, posee baja cantidad de P, N y materia orgánica (Barea y Azcón 1991).

Aprovechar los beneficios de la asociación simbiótica de microorganismos del suelo, es una alternativa de manejo de la pastura que permite un aumento de su calidad nutricional. Mediante estos mecanismos biológicos se logra la restauración de suelos, sin perturbar y/o empeorar su condición. Entre estos mecanismos, se pueden citar las asociaciones simbióticas como las de micorrizas arbusculares (MA) (endomycorriza donde el

<sup>1</sup> Profesora investigadora Facultad Ciencias Agronómicas y Veterinarias. Escuela de Zootecnia. Universidad Autónoma de Santo Domingo (UASD).

<sup>2</sup> Trabajo de tesis para optar por el título de ingeniero agrónomo, Universidad Autónoma de Santo Domingo (UASD).

<sup>3</sup> Estudiante Zootecnia UASD.

<sup>4</sup> Profesora investigadora Facultad Ciencias. Escuela de Biología. Universidad Autónoma de Santo Domingo (UASD).

hongo penetra en las células corticales de las raíces de una planta vascular) y otras especies de plantas.

Las micorrizas son asociaciones entre plantas y hongos benéficos, que actúan incrementando el volumen de la raíz y permiten una mayor exploración de la rizósfera. Son considerados los componentes más activos de los órganos de absorción de los nutrientes de la planta, que provee al hongo simbionte de nutrientes orgánicos y de un nicho protector, Corredor (2008).

Los hongos micorrízicos se especializan en ayudar a las plantas en la captación de fósforo del suelo, mejoría en la absorción del agua y facilita la absorción de nutrientes del suelo.

También, existen en el suelo bacterias gran negativas como el *Rhizobium*, que se asocian a leguminosas, son especializadas en la captación del nitrógeno atmosférico y otros microorganismos habitantes de la rizósfera de las plantas, con capacidad de movilizar nutrientes a través de la solubilización de elementos, Franco (2000).

Debido a los efectos negativos en el suelo causados por los fertilizantes químicos, se trabaja desde hace años en la búsqueda de alternativas que disminuyan su uso.

La simbiosis micorrízica aumenta la absorción de nutrientes, tales como: nitrógeno, potasio, calcio, zinc, magnesio y, especialmente, fósforo. Mejora el transporte y la absorción de agua en la planta, la resistencia de la planta huésped a la sequía, Merryweather y Fitter (1996), Alkaraki y Clark (1998), Rivas (1997) y Alkaraki (1998). Adicionalmente, contrarresta el ataque de patógenos, ya sea por la ocupación previa del espacio de las raicillas o por la estimulación de los mecanismos de defensa bioquímica y, finalmente, contribuye a la formación de agregados del suelo, Dassi *et al.* (1998) y Cuenca y *et al.* (1998).

La micorrización de las raíces es una de las técnicas biológicas utilizadas para contrarrestar el efecto negativo de los fertilizantes químicos. Sin embargo, en la producción de pastos su uso es limitado. Generalmente, los estudios con micorrizas son dirigidos a leguminosas y muy pocos a gramíneas, Noda (2009). La simbiosis de las endomicorrizas arbusculares es importante para promover la sanidad y la productividad en los cultivos de importancia agrícola, ganadera y forestal, entre otros, Gómez *et al.* (1996).

Esta relación es benéfica tanto para la planta como para el hongo, el hongo contribuye con la planta en la absorción de nutrientes y agua, para sobrevivir y la planta proporciona al hongo carbohidratos producidos a través de la fotosíntesis, Trappe y Schenck (1982).

Resultados de investigaciones con hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA) en relación con la producción de biomasa seca y el contenido químico en especies forrajeras, evidencian el beneficio que proporcionan estos hongos en función a la especificidad, capacidad de infectar, época (lluviosa o seca), fertilización y la dependencia, Jehne (1991).

Este estudio tiene como objetivo determinar la presencia y porcentaje de colonización de esporas de micorrizas nativas asociadas a cultivares de *Brachiaria brizantha* en los suelos ácidos de la Hacienda El Mamey en Higüey, provincia La Altagracia, en el este de la República Dominicana.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en la Hacienda El Mamey, en el paraje El Mamey, Higüey, provincia La Altagracia, en el este de la República Dominicana. El área de estudio está localizado geográficamente en las coordenadas 18°37'5" latitud N y 68°42'40" longitud O, con una precipitación promedio anual de 1443.8 mm y temperatura media anual de 26.3 °C.

Para el estudio, se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3 x 6 con tres repeticiones. El primer factor fertilizante compuesto de 3 niveles: fertilización química, orgánica a base de estiércol bovino y un testigo absoluto, sin fertilización. El segundo factor cultivares, con 6 niveles, representado por los cultivares de *Brachiaria brizantha*, 'Piatá', 'Marandú', 'Xarae', 'Toledo', 'Mulato II' y 'Sabana'.

Las variables respuestas estudiadas fueron: número de esporas en 100 gramos de suelo y porcentaje de colonización en raíces.

El experimento fue realizado en parcelas previamente establecidas de los cultivares de *Brachiaria brizantha*. A los 60 días después de la siembra, se procedió a realizar un primer corte de homogenización de las parcelas e inmediatamente se realizó la primera aplicación del fertilizante químico de la fórmula 16-20-10, a razón de 150 kg/ha/año y el estiércol de bovino razón de 50 ton/ha/año.

Se tomaron muestras de aquellas parcelas cuya fertilización estuvo basada en químico, estiércol y tratamiento testigo, tomando un kilogramo de suelo con raíces por parcela.

Las muestras se depositaron en bolsas plásticas previamente etiquetadas las cuales contenían el tipo de pasto, tratamiento y fecha de recolección. Para el transporte, fueron colocadas en nevera de foam con hielo, para su transporte y conservación.

Las muestras se dejaron a temperatura ambiente por 4 días en secado natural hasta obtener el mínimo de humedad. Posteriormente, se procedió al tamizado utilizando un tamiz malla 250 y 38 $\mu$ , respectivamente, a fin de separar las partículas grandes de suelo como piedras y otras no deseadas.

### Tamizado de las muestras de suelo

Para este procedimiento, se pesaron 10 g de suelo y se colocó en un erlenmeyer, al cual se le agregaron 100 ml de agua, se llevó a un agitador por 15 minutos, se le agregó más agua y se procedió a su tamizado. Este procedimiento se repitió dos veces, a fin de asegurar la mayor recolección de esporas en el suelo.

Tabla 1. Distribución y arreglo de los tratamientos.

Tratamientos	Siglas	Estiércol bovino	Fertilizante mineral
Piata 100%	PA	Sin aplicación	Con aplicación
	PB	Con estiércol	Sin aplicación
	PC	Sin aplicación	Sin aplicación
Marandú	MA	Sin aplicación	Con aplicación
	MB	Con Estiércol	Sin aplicación
	MC	Sin aplicación	Sin aplicación
Xarae	XA	Sin aplicación	Con aplicación
	XB	Con Estiércol	Sin aplicación
	XC	Sin aplicación	Sin aplicación
Toledo	TA	Sin aplicación	Con aplicación
	TB	Con Estiércol	Sin aplicación
	TC	Sin aplicación	Sin aplicación
Mulato	MuA	Sin aplicación	Con aplicación
	MuB	Con Estiércol	Sin aplicación
	MuC	Sin aplicación	Sin aplicación
Sabana	SA	Sin aplicación	Con aplicación
	SB	Con Estiércol	Sin aplicación
	SC	Sin aplicación	Sin aplicación

A= Fertilizante mineral; B=Estiércol de bovino; C= sin aplicación

Luego del lavado y tamizado del suelo, se recogió del tamiz inferior de 38 $\mu$ , el material que quedó depositado y se vertió en un tubo de centrifuga de 50 ml con volumen de agua entre 20 a 25 ml, luego se añadió, con ayuda de una jeringa con una manguerilla rígida adaptada, 20 ml de sacarosa al 72 % con Tween 80 al 2 %; se introdujo la manguerilla adaptada a la jeringa hasta el fondo del tubo, de manera que al añadirle la solución de sacarosa esta quede depositada debajo del material (suelo). Este paso se realiza con el propósito de lograr que las esporas suspendidas en el agua azucarada, queden suspendidas en la parte superior como sobrenadante y puedan ser colectadas con mayor facilidad. Finalmente, se coloca el tubo en la centrifuga y se programa la misma a 2000 revoluciones por 5 minutos, Gerderman y Nicholson (1963).

### Aislamiento de las esporas

Terminado el tiempo en la centrifuga, se retiran los tubos de la centrifuga con cuidado para no romper la interface que se forma entre el agua y la sacarosa. Posteriormente, con ayuda de una jeringa con una manguerilla adaptada, se absorbe de la interface la parte del agua que es donde se encuentran las esporas flotando. Se absorbe un poco de la superficie de la solución de sacarosa para extraer las esporas que quedaron atrapadas en esta solución. Luego el contenido de la jeringa se vierte a través de un tamiz de 38  $\mu$ , se lava para quitar la sacarosa adherida a las esporas y se colecta el contenido de este tamiz en una caja Petri cuadrículada, para realizar el conteo y caracterización de esporas.

### Conteo, identificación de morfotipos y caracterización de esporas

La única estructura de las micorrizas que permiten su identificación morfológica, entre los diferentes géneros y especies, son las esporas que producen y que pueden ser aisladas desde el suelo, ya que no existen claves taxonómicas actualizadas que conlleven a su identificación, Peña *et al.* (2006).

### Identificación de morfotipos

Para identificar los morfotipos de las esporas aisladas, se utiliza un estereoscopio y una caja de Petri cuadrículada. El proceso de identificación de los morfo tipos se realizó recorriendo cada uno de los cuadrantes de dicha caja e identificando cada una de las esporas por su color, forma, accesorios presentes y número de paredes.

### Caracterización de esporas

El método descrito por Schenck y Pérez (1990), caracteriza las esporas por color, forma y número de paredes, entre otros.

El procedimiento para la caracterización de las esporas consistió en extraer esporas que previamente se había identificado morfológicamente. Esta extracción se hizo con una micro pipeta, después se colocan en un porta objeto y se observan en el microscopio, allí con la ayuda de una aguja de disección se rompen las esporas así se pueden observar las paredes germinales y sus capas lo que permite identificar las esporas taxonómicamente.

El proceso para identificar las esporas utilizado fue descrito en el Manual para Identificación de Hongos Formadores de Micorriza Arbuscular (HMA), Schenck y Pérez (1990) y comparando las esporas observadas con las imágenes y descripciones de las especies descripta por el doctor Joseph Morton, que se encuentran en la Invam Colección Internacional de Hongos Micorrizogenos Arbusculares, West Virginia University, WV, USA, (<http://fungi.invam.wvu.edu/>).

También se utilizaron las imágenes y descripciones del doctor Janusz Blaszowski (Departamento of Patología de Planta de la Universidad Agrícola de Szczecin, Polonia) (<http://www.agro.ar.szczecin.pl/~jblaszowski>).

### Conteo de morfotipos identificados

El conteo de esporas fue realizado según el método de Gerderman y Nicholson (1963). Las muestras fueron colocadas en una caja de Petri cuadrículada y recorriendo cada cuadrante se determinó el número de esporas de cada cuadrante y se determinó el número de esporas de cada morfotipos con un contador manual.

### Porcentaje de colonización en raíz

La tinción de raíces se realizó utilizando el método recomendado por Philips y Hayman (1970), de la siguiente manera:

1. Lavar las raíces con abundante agua corriente, luego se introduce en un tubo de centrifuga de 50 ml se cubren con una solución de KOH al 10 % así se coloca en baño de maría a 90° C por 10 minutos.
2. Después, se lava con agua corriente utilizando un tamiz 38 $\mu$  para evitar pérdida durante el lavado, a continuación, se vuelve a cubrir con una solución de KOH al 10 % y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 10 % en proporción 1:1 (v/v), dependiendo de la raíz que sea, dejar de 5 a 10 minutos.
3. Se lava con agua corriente y se cubre con HCL al 1N para acidificar las raíces durante 10 minutos, se descanta el HCL sin lavar las raíces.
4. Se cubre con el azul de tripanal al 0.05 % y se lleva a baño de maría por 10 minutos.
5. Se vierte el colorante en un recipiente y guardar. Se lavan las raíces con agua destilada esta agua se descanta y se le vuelve agregar más agua destilada para dejar las raíces reposando por 12 horas.
6. Luego de este proceso, se seleccionan 10 fragmentos de raíz de 2 cm de largo cada una y se colocan de forma horizontal en un porta objeto y luego colocamos el cubre objeto, se observa en el microscopio y se describen las estructuras fúngicas que se encuentran dentro de las raíces.
7. El porcentaje de colonización se calcula utilizando la fórmula de Sieverding (1991):

$$\frac{\text{numero de raíces infectadas}}{\text{numero de raíces observadas}} \times 100 = \% \text{ de raíces infectadas}$$

Los datos obtenidos fueron analizados utilizando el programa informático InfoStat, Di Rienzo *et al.* 2015. Se comprobaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas los cuales no se cumplieron, esto condicionó a la realización de un análisis no paramétrico de Kruskal Wallis de forma individual para las variables número de espora en 100 gramos de suelo seco y porcentaje de colonización en 20 cm de raíz.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Identificación de morfotipos y caracterización de esporas

En el proceso de aislamiento de esporas se determinaron 8 morfotipos distintos los cuales, por razones de visibilidad, solo fueron caracterizados por género ya que su apreciación en el microscopio no era muy clara y no se observó los detalles que permiten identificar a que especie pertenecen las esporas. Se encontraron esporas que, aunque pertenecían al mismo género, no presentaron las mismas características morfológicas, coincidiendo con reportes por Schenck y Pérez (1990).

A continuación, las esporas junto a ellas sus características, género al que pertenece y una foto que se tomó durante el proceso de caracterización. Figuras 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8.

El análisis de los resultados correspondiente al conteo de las esporas, no muestran diferencias estadísticas significativas para la interacción, los efectos principales de variedad ni fertilizantes evaluados en este estudio ( $\text{prob} > F = 0.8001, 0.5365 \text{ y } 0.9192 > \alpha = 0.05$ , respectivamente). Es decir, que ninguno de los factores influyó en el número de esporas.

El conteo de las esporas mostró que la población en el área de estudio fue baja y los propágulos de hongos micorrízicos no tuvieron presencia.

Según Auge (2000), la baja presencia de esporas y la ausencia de propágulos puede deberse al sometimiento de perturbaciones del suelo durante el proceso de establecimiento del experimento.

### Colonización en raíces

No se observó coloración de raíces. No se observaron estructuras fúngicas como: hifas, arbusculos y vesículas en la raíces. No se observó estructuras, que se atribuye al estado nutricional de las plantas no ocurrió la simbiosis para surtir el efecto de asociación hongo-planta.

Según Kernaghan (2005), son muchos los factores tanto abióticos como bióticos que afectan la colonización de los hongos micorrízicos, entre ellos: la baja cantidad de propágulos presente en los terrenos y tiempo de establecimiento de las pasturas al momento de la recolección de muestras, esto sumado a la posibilidad de que las plantas no exudaran las sustancias químicas que permiten al hongo reconocerlas como su hospedero para que pueda ocurrir la simbiosis, Vierheilig y Piché (2002). Otra posibilidad pudo ser el factor tiempo de establecimiento de las plantas y

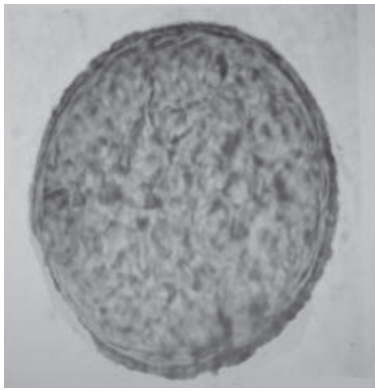


Figura 1. Género *Acaulospora* sp. color amarillo oscuro, forma globosa, número de paredes 2.

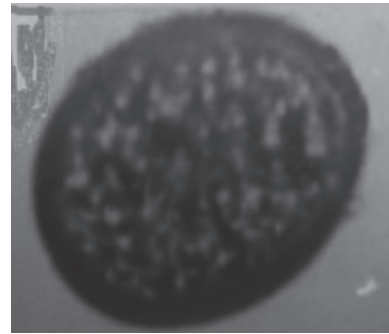


Figura 2. Género *Glomus* sp color castaño oscuro, forma subglobosa, número de paredes 2.



Figura 3. Género *Glomus* sp 1 color transparente, forma oblonga, número de paredes 2.



Figura 4. Género *Glomus* sp 2: color amarillo, forma oblonga, número de paredes 3.



Figura 5. Género *Glomus* sp 3: color castaño, forma oblonga, número de paredes 3.

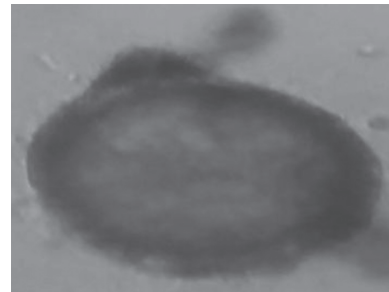


Figura 6. Género *Glomus* sp 4: color amarillo pálido, forma globosa, número de paredes 3.



Figura 7. Género *Glomus* sp 5: color amarillo, forma subglobosa, número de paredes 3.

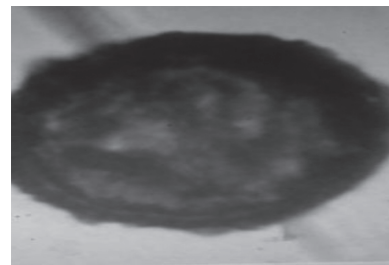


Figura 8. Género *Glomus* sp 6: color castaño oscuro, forma subglobosa, número de paredes 3.

momento de la recolección de muestras, Vierheilig y Piché (2002), esto sumado a la posibilidad de que las plantas no exudaran las sustancias químicas que permiten al hongo reconocerlas como su hospedero y pudiera ocurrir la simbiosis, Horan y Chilvers (1990).

## CONCLUSIONES

Se identificaron ocho morfo tipos. De los morfo tipos identificados solo se pudo clasificar los géneros *Glomus*, que representó el 80 % y *Acaulospora* que representó el 20 % de los géneros caracterizados.

En las raíces no se encontró estructuras de hongos como hifas, arbusculos, ni vesícula

Según los resultados no se encontraron diferencias entre cantidad de esporas asociadas a los cultivares y en la colonización en raíces.

## RECOMENDACIONES

En vista de que en la República Dominicana no se tienen referencias de investigaciones sobre hongos micorrizicos arbusculares, se recomienda que se continúe con las investigaciones y se extienda a otras especies de pastos, en diferentes suelos y zonas de vida del país, a fin de crear una base de datos sobre el tema.

## LITERATURA CITADA

Almeida, R.; De Freire, V.; Vasconcelos, I. 1985. infección de micorrizas vesícula arbuscular en gramíneas y leguminosas herbáceas y arbustivas en dos suelos del estado de Ceara. *Ciencias Agronómica* 16(1): 69-73.

Alkaraki, G.; Clark, R. 1998. Benefit, cost and weater use efficiency of arbuscular mycorrhizal durum wheat grown under drought stress. *Micorrhizal* 8 (1): 41.

Alkaraki, G.; Clark, R. 1998. Growth, mineral acquisition and weater use by micorrhizal wheat grown under weater stress. *J. of Plant Nutrition* 21 (2): 263.

Auge, R. 2000. Stomatal behavior of arbuscular mycorrhizal plants. In: Kapulnik Y and Douds DD Eds. *Arbuscular M ycorrhizas: physiology and function*. Kluwer Academic publishers, Dordrecht, NL. 384 p.

Barea, J.; Azcon-Aguilar, C. 1998. Mycorrhiza and their significance on nodulating nitrogen fixing plants. *Adv. Agron.* 36: 1-54.

Barkworth, M.; Capels, K.; Long, S.; Piep, B. 2003. Magnoliophyta: Commelinidae (in part): poaceae, part 2. 25: i-xxv, 1-783. In *Fl. N. Amer.* Oxford University Press, New York, NY.

Corredor, G. 2008. Micorrizas arbusculares: aplicación para el manejo sostenible de los agrosistemas. (En línea). Revisado el 10 de octubre 2016. Disponible en: <http://www.turipana.org.co/micorrizas.html>

Cuenca, G. 1998. Arbuscular mycorrhizae in the rehabilitation of fragile dregade tropical land. *Biology and Fertily of Soil.* 26 (2): 107.

Dassi,B.; Dumas-Gaudot, E.; Gianinazzi, S. 1998. Do pathogenesis-related (PR) proteins play a role in bioprotection of mucorrhizal tomato roots towards *Phytophthora parasitica*? *Physol. Mol. Plant pathol.* 52:167-183.

Di Rienzo, J.; Casanoves, F.; Balzarini, M.; González, L.; Tablada, M.; Robledo, C. 2008. Infostat, versión 2008. Grupo Infostat. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, AR.

Franco, J. 2000. Efectos beneficiosos de las micorrizas sobre las plantas. (En línea). Revisado el 10 de octubre 2016. Disponible en: [http://www.bioscripts.net/col/Apuntes/Nutricion\\_Vegetal/Trabajo\\_de\\_nutricion\\_vegetal.pdf](http://www.bioscripts.net/col/Apuntes/Nutricion_Vegetal/Trabajo_de_nutricion_vegetal.pdf)

Gerdeman, J.; Nicolson, T. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by west sievingand decanting. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*46: 235-244.

Gómez, R. 1996. Principales resultados de la aplicación de biofertilizantes en cultivos de interés económicos en cuba utilizando la tecnología de recubrimiento de las semillas. En: IX Seminario del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Programa y Resúmenes. La Habana. CU. 72 p.

Howler, R.; Sierveding, E.; Safir, S. 1985. aspectos prácticos de la tecnología de las micorrizas en algunos cultivos y pasturas tropicales. *Plant and soil* 100: 249-283.

Kernaghan, G. 2005. Mycorrhiza diversity: Cause and effect? *Pedobiology* 49: 511-520.

Lascano, C. 2002. Cultivar Toledo, *Brachiaria brizantha* (Accesion CIAT 26110): gramíneas de crecimiento vigoroso para intensificar la ganadería colombiana: corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria; Cali, CO. 22p.

Merryweather, J.; Fitter, A. 1996 Phosphorus nutrition of an obligately mycorrhizal plant treated with the fungicide benomyl in the field. *New Phytologist* 132: 307-311.

Noda Y. 2009. Las micorrizas: una alternativa de fertilización ecológica en los pastos. Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey". La Habana, CU. *Pastos y Forrajes* 32(2). 10 p. (En línea). Revisado el 10 de octubre 2016. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03942009000200001](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942009000200001)

Phillips, J.; Hayman D. 1970. Improved procedures for clear ringroots and staining parasiticand vesicular-arbuscular mycorrhizal fungui for rapidas sessment to infection. *Trans Brit. Mycol. Soc.* 55:158-161.

Safir, G.; Duniway, J. 1984. Evaluation of plant response to colonization by vesicular-arbuscular mycorrhizal research. Florida: thirdprinting, APS, Press. 78 p.

Schenck, N.; Pérez, Y. 1990. Manual for the Identification of Va Mycorrhizal Fungi. Synergistic Publication, Gainesville, FL. 286 p.

Sieverding, E. 1991. Vesicular-Arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. *GTZ, Eschborn, DE.* 371 p.

Vierheilig, H.; Piche, Y. 2002. Signaling in arbuscular mycorrhiza: facts and hypotheses. In: manthey, J, buslig, B, eds. *Flavonoids in the living system*. Plenum Press. New York, NY.

Tabla 2. Conteo de esporas/100 gramos de suelo recolectado según cultivar de *Brachiaria brizantha*.

Tratamientos	Piata	Marandu	Xarae	Toledo	Mulato II	Sabana
Químico A	7	8	0	1	2	2
Estiércol B	1	5	8	3	6	4
Testigo C	0	3	2	3	2	3