



Trabajo de Diploma en opción al Título de Ingeniero Agrónomo

Título: Respuesta de *Leucaena leucocephala*(Lam.) de Wit a la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en un suelo de baja fertilidad.

Autor: Yamirka Sánchez González

Tutor: Dr. C. Lázaro J. Ojeda Quintana

Curso 2022

Año 64 de la Revolución

RESUMEN

La investigación se realizó en un área experimental del Centro Universitario del municipio de Cumanayagua, provincia de Cienfuegos, Cuba, con el objetivo de evaluar la respuesta de *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit a la inoculación de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) en un suelo Pardo Grisáceo de baja fertilidad. Se evaluaron un tratamiento fertilizado con NPK de base y aplicación fraccionada de nitrógeno en cortes alternos, un testigo e inoculación con las cepas: de HMA, en un diseño de Bloques al azar con 4 tratamientos y 3 réplicas. Se realizó el corte de establecimiento y cinco cortes sucesivos, con un promedio de 51,33 días entre los mismos y un tiempo de explotación de las plantas de 217 días. La mayor tasa de multiplicación se produjo en la variante con fertilización mineral, seguida del tratamiento inoculado con *F. mosseae*. la *L. leucocephala* respondió favorablemente a la inoculación micorrizas con incrementos de biomasa acumulado entre 19,40 y 33,40 % con relación al testigo respectivamente. *F. mosseae* mostró mayor dependencia micorrizica. Resultó evidente la disminución del efecto de la micorrización en el tiempo. El valor más elevado de proteína bruta se obtuvo en la variante con la fertilización NPK, mientras que las variantes inoculadas superaron al testigo. Todos los tratamientos incrementaron el pH y el contenido de materia orgánica del suelo en la rizosfera de la planta, aunque sin diferencias estadísticas entre sí. No se puede suponer una influencia del efecto de la micorrización en la modificación alcanzada de los mismos.

Palabras clave: Simbiosis, forrajera arbustiva, rebrotes, biomasa, proteína bruta.

ABSTRACT

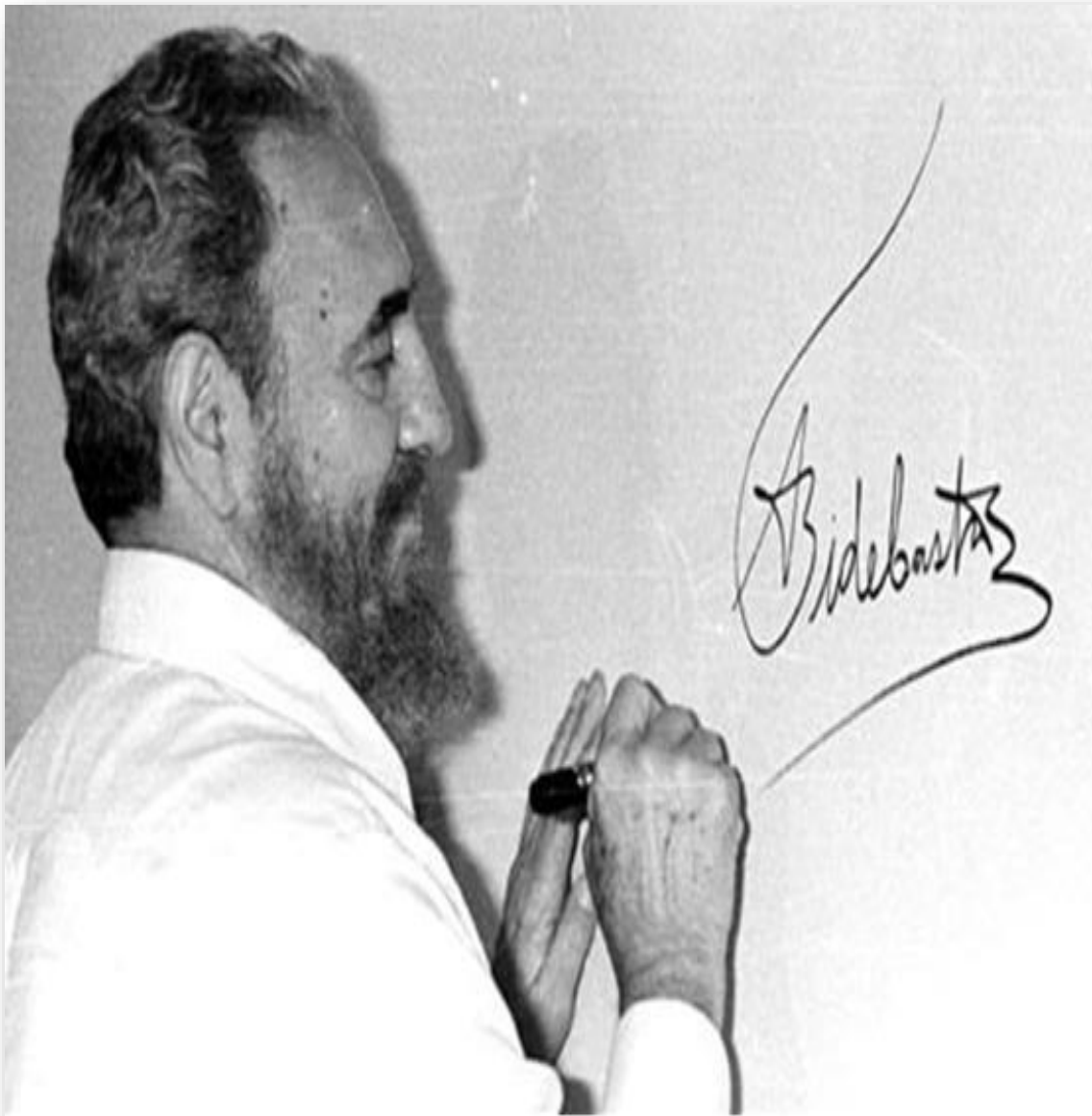
The investigation was carried out in an experimental area of the University Center of the municipality of Cumanayagua, county of Cienfuegos, Cuba with the objective of evaluating the response of *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit to the inoculation of different arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) strains. The experiment was carried out using random blocks with four treatments and three repetitions that include the two AMF strains inoculated *L. leucocephala*, application of NPK and a witness without inoculating. Was carried out the establishment cut and five successive courts, with an average of 51.33 between the same ones and 217 days exploitation time of the plants. The quantity of biomass production and the content of gross protein of *L. leucocephala* in each court. This specie responded positively to the inoculation with *F. mosseae*, with increments of biomass production for courts between 19, 40 y 33, 40 %. *F. mosseae* showed bigger mycorrhizal dependence. It was evident the decrease of the mycorrhizal effect in the course of time. The highest value in gross protein was obtained in the variant with the mineral fertilization and the inoculated variants overcame the witness. All the treatments increased the pH and the content of organic matter in the soil of the rhizosphere of plants, although without statistical differences to each other. You cannot suppose an influence of the mycorrhizal effect in the reached modification of the same ones.

Keywords: Symbiosis, fodder shrubs, sprouts, biomass, gross protein.

PENSAMIENTO

(...) hay que lograr un salto de calidad en la agricultura, para que la agricultura no sea un sector de la producción que no aporte a la economía (...)

Fidel Castro Ruz



DEDICATORIA

A mi tutor cascarrabias le dedico, en honor a su paciencia de artesano, este logro.

A mi familia, mis seres queridos y los profesores del CUM, pues cada uno desde su espacio contribuyó a la realización de tan importante proyecto de vida, en especial a mi esposo por sus consejos y enseñanzas como Ingeniero agrónomo. Todos somos ingenieros.

AGRADECIMIENTOS

Ser madre, y estudiante es difícil, sobre todo cuando se estudia una carrera profesional y estás en proceso de elaborar una tesis. Pero resulta mucho mas difícil cuando sabes que sacrificas a alguien para realizar tu sueño y esa personita es tu hijo.

Le agradezco profundamente la paciencia y la madurez con la que a pesar de su corta edad adoptó mi decisión de ser agrónoma, todas las horas que le robe sin derecho por estar embutida en mis estudios. Mi triunfo amado mío, es tu triunfo.

ÍNDICE

RESUMEN.....	
ABSTRACT	
PENSAMIENTO.....	
DEDICATORIA.....	
AGRADECIMIENTOS	
ÍNDICE	
INTRODUCCIÓN	1
PROBLEMA CIENTÍFICO:.....	4
HIPÓTESIS:.....	4
OBJETIVO GENERAL:	4
OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	4
CAPÍTULO 1: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
1.1) Manejo sostenible del suelo en la explotación agropecuaria.....	5
1.2) <i>Leucaena leucocephala</i> (Lam.) de Wit, acercamiento a la botánica, fenología, cultivo y uso agropecuario.....	12
1.3) Los Hongos Micorrízico Arbusculares en la nutrición de las plantas.	18
CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS	28
2.1) Localización, suelo y clima.....	28
2.2) Diseño, procedimiento y muestreo.....	28
2.3) Mediciones realizadas	29
Objetivo 1.....	29
Objetivo 2.....	30
Objetivo 3.....	30
Análisis estadísticos:.....	30
CAPÍTULO 3: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
CONCLUSIONES	45
RECOMENDACIONES	46
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

INTRODUCCIÓN

Para comenzar a hablar de la demanda de alimentos de origen animal que continua en aumento resulta significativo el criterio de Friedrich (2014) quien explica que hasta el año 2050 se espera un crecimiento adicional de 70 % que al compararse con el año 2010, para alimentar una población de 9.000 millones en 2050, de los cuales 70 % vivirá en centros urbanos. Eso lleva a reconocer la importancia ambiental que el sector ganadero mundial tiene: la producción animal ocupa 30 % de la tierra, 80 % de las tierras agrícolas, 8 % del agua dulce y emite el 14.5 % de las emisiones de gases con efecto invernadero. (p.5)

La ganadería de leche y carne en el trópico, depende fundamentalmente de la producción de pastos, la cual está sometida a condiciones ecológicas diversas que la afectan, no sólo en cuanto al volumen de biomasa producida, sino también a una distribución estacional, determinada por variaciones ambientales, dependiente de la distribución de las precipitaciones que ocurren anualmente. Estas características, junto a las de múltiples especies forrajeras y a las razas animales y su mestizaje, conforman un inmenso complejo de factores que, en forma aislada o interaccionada, afectan la productividad de estos ecosistemas.

Según Blanco, et al (2012) las investigaciones en el manejo de los pastos para la producción de leche bovina en Cuba comenzaron en la década del 70 a partir de los estudios de gramíneas pratenses y forrajeras en monocultivo, con altos y bajos insumos (p.276), hasta la década del 90, que se inicia un nuevo concepto del manejo de la pradera en el que se insertan los árboles sobre el estrato herbáceo con gramíneas y leguminosas herbáceas, con bajos insumos. Los resultados con altos insumos permitieron generar los principios esenciales para el buen manejo de la pradera de acuerdo al nuevo concepto de pastizal, que incluyó los árboles sin fertilización ni riego, sobre la base de una concepción agroecológica a partir de un enfoque sistémico en armonía con el medioambiente que mitigue los procesos degenerativos del suelo.

Al tener en cuenta el criterio de Wencomo y Ortiz (2011) respecto a la introducción de árboles leguminosos en las pasturas, por su capacidad de proveer alimento de alto valor nutritivo, especialmente durante la época de seca, destacan que estos se utilizan como fuente de sombra,

para conservar y mejorar el suelo, reciclar los nutrientes y como alternativa para revertir el proceso de degradación de los pastos por su capacidad de rebrote después del corte y/o ramoneo y de restablecerse rápidamente de los estreses biótico o abiótico, entre otros aspectos. (p.6)

Respecto al uso de plantas forrajeras en la dieta de diferentes especies animales autores como (Muñoz, et al., 2004 y Alonso et al., 2006) explican que cuando se trata de sistemas agropecuarios esta es una de las opciones para la producción eficiente y rentable puesto que brindan un mayor rendimiento en cultivos adyacentes lo que lleva a una mejora en la economía de los productores y aportan una importante cantidad de nutrientes a los suelos, ayudándolos a su recuperación.

De ahí que la *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. resulte excelente para este propósito porque se encuentra entre las especies más usadas en asociación con gramíneas o pastos mejorados mostrándose como una práctica agroforestal que tiene alta aceptación por parte de los productores.

Hasta hace pocos años, los estudios sobre la fertilización de los pastos se enfocaban, principalmente, en el incremento de la producción de biomasa por unidad de superficie y la evaluación del impacto económico del uso de los fertilizantes. Actualmente, sin perder de vista el aspecto económico dado el aumento creciente de los precios de los fertilizantes, se le concede gran importancia a la preservación del ambiente; de modo que se ha acrecentado la necesidad de diseñar estrategias de fertilización que garanticen una nutrición adecuada de los pastos y a la vez, aseguren la protección de los recursos naturales (Richardson, et al., 2009, p 121).

Dentro de esas estrategias se puede considerar que el uso de biofertilizantes es una de las técnicas empleadas por el hombre para obtener elevados rendimientos en los cultivos, sin causarle daños al ambiente. Se plantea que una tecnología que está vinculada con este concepto es la inclusión de microorganismos en las semillas (inoculación), tales como hongos micorrízicos, bacterias fijadoras de N₂ y/o solubilizadores de fósforo, los cuales producen efectos aditivos, de particular importancia en la productividad de los cultivos y en una mejor calidad fitosanitaria, además de aumentar el contenido de materia orgánica del suelo. Resulta imprescindible mejorar la calidad

de los pastos y forrajes, encontrar alternativas que puedan suplir el déficit de los mismos, sobre todo abaratar los costos de los fertilizantes minerales y proteger el medio ambiente (Corredor, 2008, p. 84).

Los HMA establecen simbiosis con más del 70% de las plantas terrestres (Brundrett y Tedersoo, 2018) y son un elemento fundamental en los agro-ecosistemas porque colonizan la mayoría de plantas de interés agronómico. Los beneficios de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en los agroecosistemas de pastizales están estrechamente relacionados con el aumento de la absorción de elementos minerales, agua y otras sustancias, a través de una red de hifas interconectadas que incrementan el volumen de suelo que exploran las raíces y facilitan el acceso de las plantas a los nutrientes que se encuentran en formas menos asimilables resultados que se derivan de estudios que se relacionan con la temática y donde autores como (Johnson, et al., 2003, Leigh, et al., 2009) coinciden en sus criterios.

Este análisis permite coincidir con la idea que plantean desde sus estudios en que se podría disminuir las dosis de fertilizantes a aplicar a los pastos en función de un mayor aprovechamiento y eficiencia del uso de los nutrientes del suelo y de los propios fertilizantes.

Al tener en cuenta el estudio de Verbruggen, et al, (2013) se afirma que la inclusión de HMA en los sistemas de biofertilización de los pastos y cultivos forrajeros puede ser una vía efectiva para mejorar su rendimiento y valor nutritivo, 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 de la eficiencia de la utilización de los nutrientes por las plantas.

Estos mismos autores además refieren que la incidencia de los HMA en el mantenimiento de las propiedades físicas del suelo y la renovación de las mismas como consecuencia de la presencia de la red externa del micelio extramático del hongo que se expande por la capa arable del suelo y facilita una mejor aireación y adhesión de las partículas del suelo y a nivel mundial, inóculos comerciales que incluyen propágulos de HFMA están disponibles para la industria agrícola y diferentes experimentos se han realizado para analizar su funcionalidad. (Frew, 2020, p.56).

Por la importancia del resultado que muestra la investigación de Ojeda, et al, (2015) se ratifica que hoy día, se ha comprobado en diversas especies de plantas de interés agrícola, forestal y pecuario, que las interacciones ecológicas, como las establecidas con HMA pueden contribuir al cuidado del ambiente ya que pueden disminuir el uso de fertilizantes químicos así como los costos de producción de forrajes. A pesar de lo anterior, existen vacíos de información relacionada con la simbiosis entre los HMA y *Leucaena*. En Cumanayagua se cuenta con antecedentes de evaluación del MicoFert Agrícola en *Leucaena leucocephala*, (p.176-182). Lo expuesto anteriormente permite plantear el siguiente problema científico:

PROBLEMA CIENTÍFICO:

¿Se favorece el rendimiento y la calidad del forraje de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. con la inoculación de Hongos Micorrízico-Arbusculares (HMA)?

HIPÓTESIS:

La inoculación de *L. leucocephala* con HMA en un suelo de baja fertilidad natural podría incrementar el rendimiento y calidad de la biomasa en cortes sucesivos para forraje.

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la producción y calidad de la biomasa de *L. leucocephala* inoculada con especies de HMA en un suelo Pardo Grisáceo de la región centro-sur de Cuba.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Determinar el efecto de la inoculación con diferentes especies de HMA en la producción de rebrotes de *L. leucocephala* en el tiempo.
2. Seleccionar la cepa de HMA que propició mayor producción y calidad de biomasa con más eficiencia micorrízica.
3. Verificar indicadores agroquímicos a nivel de rizosfera de la planta previo a la inoculación y posterior a los cortes de forraje.

CAPÍTULO 1: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1) Manejo sostenible del suelo en la explotación agropecuaria

A pesar de una gran preocupación por un manejo sostenible de tierras en la comunidad internacional, la degradación de las mismas tanto en términos de la biodiversidad, como de los recursos de suelo y agua, continúa. El uso agrícola, fundamento de la producción de alimentos y la sobrevivencia de la especie humana, contribuye a esta degradación de los ecosistemas, tanto en las áreas de uso para cultivos, como de pastos.

Por la necesidad de producir alimentos, se han hecho muchos compromisos con respecto a la “sostenibilidad”, lo que lleva a pensar que es un sueño inalcanzable. La degradación continua, la pérdida del potencial productivo de los suelos y la expansión de áreas desérticas y salinas ha resultado en una creciente preocupación y ha creado un interés en el suelo. Como resultado las Naciones Unidas nombraron el año 2015 como Año Internacional de los Suelos (FAO, 2015, p.7).

Sin embargo, aun así, los suelos se protegen, porque con los intentos históricos de conservar los suelos en la medida posible se trata de curar los efectos sin resolver la causa principal de la degradación. Cuestionando la necesidad de prácticas que se puede identificar como causas básicas de degradación, se llega a un nuevo paradigma de la agricultura, lo que se expresa la FAO (2011) al introducir el termino de Intensificación Sostenible, alcanzando no solo en teoría, sino también en la práctica la sostenibilidad en el manejo de las tierras sin sacrificar la seguridad alimentaria. (p.10).

La parte fundamental de este concepto es la observación de ecosistemas naturales y su funcionamiento, al respecto se analizó el estudio de Uphoff, et al, (2013) quien especifica que en estos ecosistemas el suelo es un elemento clave, que funciona como un mediador de servicios de ecosistemas. (p.535) En convertir estos ecosistemas naturales como un bosque primario en tierras manejadas a fines agrícolas, los suelos pierden estas características. El impacto ambiental, que inicia la degradación de tierras en el caso de la deforestación es el manejo del suelo. La

intervención más crítica causa principal de la degradación de suelos y que en la naturaleza no está prevista, es la labranza mecánica de los suelos. (p.535)

Como resultado, la biodiversidad del suelo se reduce, dejando sobre todo bacterias, que contribuyen a la descomposición de la materia orgánica en el suelo. Con la desaparición de la meso y macro fauna del suelo, los procesos de estructuración del mismo terminan. (Castellano, et al, 2012, p.81)

Con la disminución de la materia orgánica, el suelo pierde su estabilidad física y su capacidad de manejar y almacenar minerales solubles en agua. La consecuencia de esto es una disminución de la capacidad de infiltración y retención de agua en los suelos y la lixiviación de los nutrientes de suelo. Los suelos pierden su capacidad productiva, requieren cada vez más fertilizantes. Además, se interrumpen las redes alimenticias y de control natural del ecosistema, lo que permite la proliferación de especies dañinas a los cultivos como plagas y enfermedades. Al final, la degradación física de los suelos llega a ser visible en la erosión de los mismos, la desaparición de la capa “fértil” y finalmente la desertificación de tierras.

El suelo está al mismo tiempo como elemento principal para el manejo de los recursos hídricos. Del suelo depende, qué proporción de las precipitaciones pueden infiltrar y retenerse en los acuíferos subterráneos, cuanto evapora de forma inútil y cuanto se pierde en escorrentía superficial. Por esto, la consecuencia de la degradación de los suelos se ve también en la reducción de la disponibilidad de recursos hídricos.

Para las condiciones de Cuba estos procesos son claramente visibles. La actual situación de precipitaciones por debajo de la norma causa los problemas de la sequía actual, resultado de un desaprovechamiento de las precipitaciones en años normales. Más aún, una baja en los acuíferos de agua dulce tiene como consecuencia la intrusión de aguas marinas, lo que lleva a la salinización de los acuíferos costeros. En el caso de Cuba, una isla angosta y larga, esto afecta todos los acuíferos con los peligros de una salinización de los suelos que se irrigan y expanden de acuerdo a los procesos de salinización y otros espacios menos comprometidos.

La desertificación como consecuencia de los pastos degradados puede ser resultado de un manejo inadecuado de nutrientes, manejo mecánico de la vegetación, tanto por corte como por pastura y de la compactación del suelo por tráfico de maquinaria o animales, aspectos que se corroboran en el estudio de Friedrich, (2014), quien además detalla que en áreas de pastura se pueden producir los mismos procesos de degradación ya que es más la afectación de la vegetación, que puede en caso de un manejo inadecuado llevar a una selección de pocas especies, resultando en una degradación de la biodiversidad y finalmente un monocultivo. (p.34)

El manejo agrícola de las tierras ya tiene tanta historia que no nos percatamos de los cambios, desconociendo las condiciones y funcionalidades de nuestros ecosistemas agrícolas cuando las tierras eran vírgenes. Kassam, et al (2013) plantean que los pocos ecosistemas naturales y no manejados que todavía existen nos pueden dar una referencia; al estudiar estos, podemos analizar los daños causados por el manejo agrícola de los suelos para tratar de recuperar estas funciones de un ecosistema natural en nuestras tierras agrícola en la forma posible

Las prácticas de manejo de tierras agrícolas, que hoy reconocemos como no sostenibles, tienen mucha tradición. Muchas de las prácticas usadas actualmente en todo el mundo, como el uso del arado, fueron desarrolladas en climas templados con ecosistemas mucho menos frágiles que los ecosistemas de zonas tropicales. (Basch, 2012, p.21). En este sentido es válido acotar que durante muchos siglos fueron perfeccionados y distribuidos en el mundo sin reflejar realmente las necesidades y consecuencias de estas prácticas.

El desarrollo tecnológico en el último medio siglo nos ha demostrado, que se puede evitar las prácticas dañinas al medio ambiente, sin sacrificar los logros productivos de una “agricultura intensiva”, llegando al nuevo paradigma de la “intensificación sostenible”. Para Friedrich, (2014) este paradigma se fundamenta en la Agricultura de Conservación (AC), un concepto agrícola, caracterizado por tres principios básicos, que copia las características de un ecosistema natural: 1. La perturbación mínima del suelo en forma continua, 2. Una cobertura permanente de la superficie del suelo con materiales orgánicos y 3. La diversificación de especies cultivadas en secuencia y/o asociaciones

Según la definición de Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), “los principios de la AC son universalmente aplicables a todo tipo de paisajes agrícolas o uso de la tierra con las prácticas correspondientes adaptadas localmente. La AC se basa en el fortalecimiento de la biodiversidad y procesos biológicos naturales encima y debajo de la superficie del suelo. Intervenciones en el suelo como la perturbación mecánica del suelo están reducidas a un mínimo absoluto o completamente abandonadas mientras otros insumos como agroquímicos o abonos de origen orgánico o sintético están usados en su óptimo de una forma y cantidad que no interfiera o haga daño a los procesos biológicos.

La Agricultura de Conservación está creciendo en todo el mundo de forma exponencial, cubriendo en 2014 un área de 155 millones de hectáreas, correspondiendo a 11 % del área agrícola. En algunas de estas áreas existen experiencias de 50 años de aplicación continua del concepto, permitiendo valorar los impactos productivos y ecológicos del concepto (Kassam, et al., 2014, p.22).

El concepto de diversidad que está incluido en la definición de la AC refiere no solo a diversidad de cultivos, sino también de sistemas de producción. Por lo tanto, la AC facilita la integración de agricultura con ganadería y silvicultura. De Faccio Carvalho, et al. (2009) plantean que los conceptos de la diversidad se aplican no solo a cultivos de forrajes, sino a las mismas áreas de pastura. Pastos permanentes deberían tener una diversidad de especies y el manejo de estas áreas debe mantener esta diversidad. Según las especies en el pasto es preferible, en caso de pastura directa de animales, de exponer pequeñas áreas de pasto a altas densidades de animales con tiempos de exposición corta. Esto resulta en un mejor aprovechamiento del pasto con menos movimiento de los animales y mejor recuperación del pasto. Otras áreas de pasto pueden ser rotadas con cultivos anuales, diversificando la rotación de cultivos y enriqueciendo el suelo, de esta forma se ayudará al reciclaje de nutrientes y a la recuperación de suelos afectados por procesos erosivos o de bajos índices de fertilidad natural.

Otra forma complementaria de diversificación es la integración de árboles en el paisaje agrícola, tanto en los linderos de los campos, como dentro de los mismos. Los árboles pueden contribuir a

funciones de abono para cultivos con la caída de hojas, forraje animal, sombra para animales, manejo de los niveles freáticos, y producción de leña o madera u otros productos no maderables.

Según la FAO (2013). con rotaciones se evitaría la acumulación de impactos, como la compactación, evitando un daño permanente que no se pudiera recuperar (p.2) de ahí que la integración de áreas forrajeras y de pasto en los sistemas agrícolas diversificados, que generan suelos mejor estructurados y por lo tanto menos susceptibles a compactación, puede no solo contribuir a mejores producciones, sino también a contrarrestar la degradación de los sistemas productivos y de los recursos naturales que son consecuencia del pisoteo de los animales

Según Restrepo, et al. (2019) los ecosistemas de pastizales se caracterizan por presentar la vegetación abierta dominada por especies herbáceas y cuya producción primaria es aprovechada directamente por los herbívoros (p.96). Autores como Quero, et al. (2007) plantean que pueden estar formados por la unión armónica de especies herbáceas, arbustivas, arbóreas y otras, lo que origina los denominados sistemas silvopastoriles. Suelen estar situados en zonas con suelos de productividad relativamente baja que no son adecuadas para usos agrícolas intensivos.

En ellas, el pastoreo es un procedimiento eficaz para recolectar y transformar su producción primaria en productos para uso o consumo humano, a la vez que a través de sus bostas y orina puede contribuir al reciclaje de los nutrientes. La composición y productividad de los pastos está regulada por la actividad de los herbívoros y el hecho de que su manejo requiera contar con otro nivel trófico, supone un grado añadido de complejidad para la Ecología aplicada al manejo de los recursos naturales

Yado, et al., (1996) definen como “pastizal” cualquier área que produce pastos para el consumo del ganado. (p.30) Según estos autores se reconocen dos clases fundamentales de pastizales, cuya diferencia principal reside en la intensidad de manejo y los tratamientos culturales a que son sometidos. Estas dos clases son los pastizales naturales, que son aquellas tierras que asientan pasto nativo o autóctono para el consumo animal y los pastizales artificiales, que son aquellas tierras de pastoreo con manejo intenso, que usualmente tienen especies forrajeras introducidas y reciben prácticas culturales.

Los pastizales, independientemente del tipo, están constituidos por elementos bióticos y abióticos que conforman una unidad indisoluble, de cuya dinámica y armonía depende el adecuado funcionamiento del ecosistema. Entre los componentes abióticos se encuentran las sustancias inorgánicas, que intervienen en los ciclos materiales, el régimen climático, el suelo, la topografía y la altitud. Entre los bióticos se ubican las plantas u organismos autótrofos, los consumidores de materia orgánica y los desintegradores como las bacterias, hongos, nemátodos y otros. Todos los componentes poseen funciones específicas e interactúan entre sí, por lo que la estabilidad productiva del pastizal y su persistencia en el tiempo están influidas por el equilibrio dinámico existente entre las partes del sistema.

Otros elementos que actúan en los ecosistemas de pastizales y son parte disoluble de ellos son los factores económicos, sociales y culturales, cuya influencia se refleja directamente en el manejo a que se someten. Todos estos componentes son interdependientes e interactivos y funcionan como un todo único, donde la alteración de alguno de ellos se refleja en los otros y por lo tanto en el funcionamiento armónico del ecosistema.

El suelo, es componente fundamental de estos agroecosistemas es la base de la pirámide para lograr su adecuado manejo ecológico. La conservación del suelo es el mantenimiento de su salud y calidad, es decir, lograr que funcione adecuadamente, lo que se manifiesta mediante el estado de sus propiedades físicas, químicas y biológicas y permite lograr su productividad agrícola sostenible con impacto ambiental positivo.

Así mismo, la conservación edáfica está relacionada con la resiliencia del suelo, que no es más que su capacidad para recuperar su integridad funcional después de un disturbio, manteniendo el equilibrio dinámico en sus procesos y funciones (Hernández, et al, 2006 p.60). Los factores que afectan la resiliencia del suelo son fundamentalmente el clima y el manejo, cuando el suelo es continuamente disturbado su capacidad para restablecer el equilibrio dinámico de sus funciones decrece y requiere de la aplicación de buenas prácticas de manejo para recuperarse y cuando los disturbios se reiteran el suelo puede perder su capacidad de recuperación.

El manejo acertado de situaciones asociadas a la degradación del suelo debe estar sustentado por un proceso secuencial de análisis del problema: 1. Diagnóstico del problema: Identificación del tipo de degradación, efectos de la degradación y evaluación del impacto ecológico, social y económico de la degradación (línea base), 2. Aplicación de alternativas tecnológicas que permitan la prevención, reducción y rehabilitación 3. Seguimiento y control sistemático del efecto de las respuestas tecnológicas aplicadas mediante indicadores de sostenibilidad. Este análisis es particular para cada agroecosistema y de su realización depende la eficiencia del proceso de mejora y conservación del suelo

Las buenas condiciones a nivel del suelo favorecen la biota edáfica que puede cumplir funciones importantes. Se ha logrado investigar el trabajo de los escarabajos estercoleros y las lombrices de tierra en los SSPi, para recuperar los servicios ambientales que se relacionan con fertilidad y mejoramiento de suelo en los sistemas productivos ganaderos.

Giraldo, et al, (2011) plantean que la cobertura vegetal, el sombrero y las condiciones microclimáticas particulares de los Sistemas Silvopastoriles contribuyen a recuperar la macrofauna edáfica, la cual, durante el proceso de apareamiento y alimentación de los escarabajos, participa directamente en el proceso de remoción de suelo lo que incrementa la aireación y porosidad, evita la compactación y mejora la permeabilidad y la capacidad de retención del agua (p.19).

De ahí que sea importante considerar procesos de restauración de los suelos como indicadores de la recuperación de los mismos y a criterio de Murgueitio, et al., (2015) la intensificación ganadera con adaptación al cambio climático requiere aplicar principios agroecológicos que permitan elevar la eficiencia de varios procesos biofísicos esenciales como son la fotosíntesis en tres o cuatro estratos de vegetación; la fijación de nitrógeno y el reciclado de nutrientes con la finalidad de aumentar la producción y la calidad de la biomasa e incrementar el contenido de materia orgánica del suelo (p.40) Esto deriva en un proceso de recuperación paulatina de los agroecosistemas que en su mayoría se afectan como consecuencia de la intensificación ganadera.

1.2) *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit, acercamiento a la botánica, fenología, cultivo y uso agropecuario.

La leguminosa *L. leucocephala*, guaje o huaxim, como es comúnmente conocida, es una especie de amplia distribución en las regiones tropicales y subtropicales con una altitud entre 0 y 900 m. Es oriunda de México y Centro América y puede además encontrarse en países como Guatemala, Honduras y El Salvador.

Como consecuencia de ser una planta arbustiva se le puede encontrar en la vegetación natural como un árbol. Los españoles fueron los que se encargaron de trasladarla a otras regiones del mundo tal es el caso de Filipinas, Indonesia, Malasia, Papua Nueva Guinea y sureste de Asia; lugar donde se naturaliza como pan-tropical. Es una planta arbustiva, aunque en ocasiones se le puede

Varios autores citados por Zárate, (1994) coinciden en diferentes nombres comunes para esta especie, por ejemplo: México. Guaje blanco; Huaje; Vaxi; Yage (Rep. Mex.); Yail ba' ade, guaje verde (I.mixe, Oax.); Calloaxin, guaje de casa o casero (Gro., Pue.); Guaje verde (Mor.). Sinonimia. *Acacia glauca* Willd.; *Acacia leucocephala* (Lam.) Link; *Leucaena blancii* Ramírez Goyena; *Leucaena glabrata* Rose.; *Leucaena glauca* Benth; *Leucaena latisiliqua* (L.) Gillis & Stearn.; *Mimosaglauca* L.; *Mimosa leucocephala* Lam. (p.19).

Es un árbol o arbusto caducifolio o perennifolio, de 3 a 6 m (hasta 12 m) de altura con un diámetro a la altura del pecho de hasta 25 cm. La copa redondeada, ligeramente abierta y rala. Hojas alternas, bipinnadas, de 9 a 25 cm de largo, verde grisáceas y glabras; folíolos 11 a 24 pares, de 8 a 15 mm de largo, elípticos y algo oblicuos. Tronco usualmente torcido y se bifurca a diferentes alturas y ramas cilíndricas ascendentes. Desarrolla muchas ramas finas cuando crece aislado.

Las características de este arbusto se especifican en el trabajo investigativo de Zárate, (1994) ya que detalla en el hecho de que posee una corteza externa de lisa a ligeramente fisurada, gris negruzca, con abundantes lenticelas longitudinales protuberantes. Interna de color crema-

amarillento, fibroso, amarga, con olor a ajo, Grosor total: 3 a 4 mm. Flor(es). Cabezuelas, con 100 a 180 flores blancas, de 1.2 a 2.5 cm de diámetro; flor de 4.1 a 5.3 mm de largo; pétalos libres; cáliz de 2.3 a 3.1 mm. Fruto(s). Vainas oblongas, estipitadas, en capítulos florales de 30 o más vainas, de 11 a 25 cm de largo por 1.2 a 2.3 cm de ancho, verdes cuando tiernas y cafés cuando maduras; conteniendo de 15 a 30 semillas. Semilla(s). Semillas ligeramente elípticas de 0.5 a 1 cm de largo por 3 a 6 mm de ancho, aplanadas, color café brillante, dispuestas transversalmente en la vaina. La semilla está cubierta por una cera que retarda la absorción de agua durante la germinación. (p.23).

Las semillas se pueden almacenar a 7 °C con un 70 % de humedad relativa, durante 6 años y por muchos años más en un lugar frío (5 °C) y seco en contenedores sellados, y se reduce la humedad a 13 %. Especie de rápida velocidad de germinación. Se inicia a los 3 días y se completa a los 8 días, obteniéndose un 75 % de germinación a los 5 días, con un porcentaje de germinación de 50 a 85 %. Entre los primeros 6 y 8 días se puede lograr una germinación del 80 al 90 %.

Se colectan las vainas cuando están maduras (una vez que cambian de color verde a rojizo). Hay que cortarlas antes de que se abran. Deben ser secadas al sol sobre mallas o lonas durante el día. Sus semillas tienen una longevidad que oscila entre los 3 y 15 años. Presentan latencia física. Cubierta impermeable, Tipo de semilla. Ortodoxa.

Raíz. Raíz profunda y extendida. La raíz primaria penetra en las capas profundas del suelo y aprovecha el agua y los minerales por debajo de la zona a la que llegan las raíces de muchas plantas agrícolas. Sexualidad. Hermafrodita. Número cromosómico: $2n = 56, 104$.

Respecto a su habitat, prospera en ambientes adversos. Se adapta muy bien a las tierras bajas, crece desde sitios secos con 350 mm/año hasta húmedos con 2,300 mm/año y temperatura media anual de 22 a 30°C. Es necesario un período seco de 4 a 6 meses. Crece en una amplia variedad de suelos, desde neutros, hasta alcalinos, siempre y cuando sean suelos bien drenados, no compactados ni ácidos. Los mejores resultados se obtienen en suelos con pH de 6.5 a 7.5. Suelos inferiores a 5.5 pH no son recomendables. Su fenología, refiere un follaje Perennifolio/Caducidolio, Floración. Florece a lo largo del año en correspondencia con la

precipitación o disponibilidad del agua. Fructificación. Fructifica a lo largo del año. Los frutos maduran de marzo a abril. Polinización entomófila.

Según Sosa, et al, (1999) mantiene asociación con nódulos. Nódulos fijadores de nitrógeno en las raíces. Simbionte: *Rhizobium* y/o *Bradyrhizobium*. Nodula espontáneamente con el rizobium del lugar lo que le permite buena adaptación aún en sitios con factores limitantes (nutrición y disponibilidad de agua) (p.56). esta particularidad permite afirmar que es una especie de fácil adaptación, con buena capacidad competitiva. Fuerte competidora con otros cultivos y/o árboles nativos en situaciones de estrés, además, sus nódulos grandes y prolíficos se encuentran en las raicillas de las capas superficiales y aireadas del suelo.

Es una especie de rápido crecimiento, longevidad de 50 años. Muestra un incremento medio anual de 2.8 m en altura y 2.4 cm en diámetro. El crecimiento es lento en las primeras etapas de desarrollo de la planta y en sitios donde no hay estación seca bien definida y la precipitación es mayor a 2,500 mm. La hojarasca presenta una rápida descomposición.

Se puede decir que este árbol logra el punto reproductivo y de producción entre 1 y 2 años, no obstante, la semilla debe cosecharse de individuos de más de 3 años. Según los datos que aporta la investigación de Ruaysoognern, et al. (1989) un árbol con copa bien desarrollada puede producir entre 500 y 1,500 g de semilla limpia. Se pueden llegar a cosechar hasta 50 toneladas/ha de hojas y vainas verdes. La producción de leña logra 50m³ /ha/año. Sus rendimientos en madera varían de 24 a 100 m³ ha/año. (p.1241)

No obstante estos resultados, es importante aclarar que este árbol es lento para establecerse, pero una vez que se establece, su productividad es alta aún bajo defoliación regular. Buena productora de materia orgánica. Se logran producciones anuales de 23 toneladas/ha, en densidades de 66,600 árboles/ha y cosechas a intervalos de 60 días. Tiene capacidad para formar follaje fácilmente. Sus hojas tienen un alto contenido de nitrógeno (4.3 % peso seco).

Respecto a su uso, es cultivada comercialmente en varios países tropicales para satisfacer distintas necesidades de productos forestales. Especie ampliamente investigada en plantaciones

experimentales. Posee buen potencial para crecer y desarrollarse en plantaciones productivas con una amplia gama de condiciones de clima y suelo. Especie con potencial para reforestación productiva tanto en zonas degradadas de selva como en zonas secas y áridas. Según Pezo y Ibrahim, (1996) se ha utilizado con éxito en programas de reforestación de zonas erosionadas y en plantación urbana. (p.1)

Sosa, et al (1999) plantean que la *Leucaena* no debe plantarse arriba de los 900 ó 1000 m de elevación, es posible que la temperatura se vuelva un factor limitante para su buen desarrollo. Utilizar semilla mejorada para maximizar los rendimientos. El sitio de plantación debe quedar libre de malezas durante los primeros meses de crecimiento para evitar la competencia. El espaciamiento de la plantación varía según el objetivo de la misma; para leña y varas (tutor) se planta a 2 x 2 m. Para forraje se debe plantar a 0.5 x 0.5 m ó 0.5 x 1 m. Para acelerar el desarrollo de las plantas en vivero, llenar las bolsas de polietileno (7 x 20 cm) con una mezcla de suelo (pH entre 6 y 7), materia orgánica y arena (3:1:1) o utilizar un buen suelo sin mezclar y colocarlos a sombra parcial durante los primeros 8 días. (p.146).

En tres meses y medio, las plantas están listas para llevarlas al campo, una vez que cuenten con una altura promedio de 35 cm. Si la plantación se establece por siembra directa, es conveniente roturar el suelo y hacer un buen control de malezas, para asegurar un buen prendimiento y desarrollo inicial de la plantación. Se recupera rápidamente del corte y del pastoreo. Tolerancia la defoliación regular.

Se reproduce sexualmente, 1. Semilla (plántulas). La producción alta de semilla y el alto porcentaje de germinación, permiten utilizar esta técnica de siembra directa en el campo. Reproducción asexual. 1. Brotes o retoños (tocón). Alta capacidad de rebrote, lo que le permite ser utilizada para producir diversos productos (leña, forraje) en períodos relativamente cortos. 2. Estacas. Se ha reportado que la propagación con estacas tiene una baja sobrevivencia y crecimiento lento. 3. Cultivo de tejidos. La propagación in vitro aún no ha sido plenamente desarrollada, el inconveniente se ha presentado en la dificultad de la esterilización de los

explantes, además los brotes de callo frecuentemente no enraízan o no sobreviven al trasplante. 5. Injerto de yema. (Laquijon y Pagbilao, 1999, p.225)

Es necesario en este punto del abordaje teórico realizar un señalamiento sobre el criterio de Cruz (1999) respecto a los servicios restauradores y al ambiente que esta especie ofrece y dentro de los que se pueden mencionar como efecto(s) restaurador(es):

1. Acolchado / Cobertura de hojarasca, esta planta produce un excelente abono verde o mantillo.
2. Conservación de suelo / Control de la erosión.
3. Estabilización de suelos. Cuando se planta en curvas de nivel, mejora la estructura del suelo y evita la erosión.
4. Drenaje de tierras inundables. Las raíces extendidas desintegran capas de subsuelo impermeables lo que mejora la penetración de agua y disminuye la lixiviación de la superficie.
5. Fijación de nitrógeno. Altas tasas de fijación del nitrógeno atmosférico (100-600 kg N/ha/año).
6. Mejora la fertilidad del suelo / Barbecho.
7. Recuperación de terrenos degradados. Esta planta se emplea para rehabilitar sitios donde hubo explotación minera

Respecto a los servicios que esta ofrece se pueden enumerar

1. Barrera contra incendios.
2. Barrera rompevientos. Debe ser plantada como el componente de porte medio de la cortina.
3. Ornamental. Cultivada en calles, patios y huertos.
4. Sombra / Refugio. Árbol de sombra en plantaciones de café, cacao y hule.

Dentro de los principales usos que se le atribuyen a esta especie se destacan: Aromatizante [flor]. Aceites esenciales aromáticos. Artesanal [semilla]. Las semillas se utilizan como piezas de

joyería en la India. Colorantes. Suministro de colorantes textiles. Combustible [madera]. Leña y carbón de excelente calidad. Tiene un alto poder calorífico: 4200-4600kcal/kg. y una gravedad específica de 0.54 a 0.74. Comestible (fruta, bebidas) [fruto (vainas), semilla]. Los frutos se consideran de alta valía por su alto contenido en vitamina A y proteínas (46%). Las semillas maduras son empleadas como sustituto de café. Una hectárea puede producir de 10 a 20 toneladas de materia seca comestible comparadas con 8 ó 9 de alfalfa. Construcción [madera]. Construcción rural (ligera). Forrajero [hoja, vástago, semilla, fruto]. Forraje para rumiantes.

L. leucocephala tiene como desventaja tendencia a adquirir propagación malezoide invasora. Se le considera mala hierba en algunos países tropicales. Las hojas constituyen un excelente forraje (4 a 23 % de materia fresca; 5 a 30 % de materia seca; 20 a 27 % de proteína, rico en calcio, potasio y vitaminas). Tienen un porcentaje de digestibilidad de 60 a 70 %. Las hojas y semillas contienen un aminoácido tóxico (mimosina) (Sosa, et al, 1999, p.155). El cual puede ocasionar daño a los mamíferos no rumiantes y aves de corral (debilidad, pérdida de peso, aborto, caída de pelo en caballos, mulas y burros, bocio). Los rumiantes contrarrestan el efecto tóxico con una bacteria por lo que se recomienda el uso de una estirpe con bajo contenido de mimosina.

El establecimiento y manejo de *Leucaena* en América Latina es diferentes según tipo de región. Por ejemplo, el modelo de sistemas silvopastoriles intensivos (iSPS) se promueve de forma exitosa y es precisamente esto lo que permite hablar de su adaptabilidad en Colombia, México, Cuba, Venezuela y el noreste de Brasil.

Pachas, et al., 2019) refiere que para el caso de Paraguay y Argentina se emplea el modelo de siembra que se emplea en Australia, que se dirige a la producción de alimento para el ganado de carne, "el cual consiste en plantar la leucaena en hileras simples o dobles con callejones entre 6 y 8 m, donde se siembran gramíneas "(pp.127-132)de ahí que uno de los rasgos fundamentales para la siembra de este arbusto es que se plante en altas densidades (>10,000 plantas/ha), en combinación con gramíneas mejoradas y especies maderables de alto valor (200–400 árboles/ha).

Pese a los resultados investigativos que se evidencian en el análisis que realiza la autora se puede afirmar que, aunque hay un gran avance en investigación y promoción de esta especie en las últimas décadas, su adopción es aún baja en América Latina.

1.3) Los Hongos Micorrizícos Arbusculares en la nutrición de las plantas.

Frente a la perturbación del suelo y competencia entre las plantas, es muy importante el uso de herramientas biológicas que aseguren el establecimiento exitoso de las especies vegetales, como los microorganismos del suelo, que cumplen un rol preponderante debido a las variadas funciones que realizan. En este particular, directamente intervienen los microorganismos del suelo que conviven en la rizosfera de las plantas y establecen relaciones simbióticas y de vida libre. Algunos de ellos desarrollan interacciones benéficas sobre el crecimiento y la productividad de los cultivos, como son los hongos micorrizógenos arbusculares, bacterias fijadoras de nitrógeno, solubilizadores de fósforo y potasio y estimuladores del crecimiento vegetal. Su existencia en el suelo está estimada en billones, donde cada uno de ellos interviene en funciones específicas, y además alcanzan una interrelación que ocupa procesos edáficos fundamentales. (Heredia, 2003)

El segundo grupo con mayor número de especies entre los seres vivos, después de los insectos, es el de los hongos. Es importante tomar en cuenta que este grupo de organismos es básico para el bienestar humano en la micología industrial, la salud humana, la agricultura, la biorremediación y la biodeterioración (e.g. plásticos); así como por ser actores activos fundamentales dentro de los procesos ecosistémicos (Guadarrama, et al, 2004, p.45).

El término micorriza fue acuñado por el botánico alemán Albert Bernard Frank en 1885, y procede del griego mykos que significa hongo y del latín rhiza que significa raíz, literalmente quiere decir “hongo-raíz”, definiendo así la asociación simbiótica, o mutualista, entre el micelio de un hongo y las raíces o rizoides de una planta terrestre. Describe la asociación simbiótica de las raíces de plantas con hifas de hongos especializados del suelo, y se considera el órgano principal involucrado en la captación de nutrientes. Se refleja la interpretación errónea inicial de su carácter parasítico (Simón, 2006).

La historia de las Micorrizas, se remonta a unos 400 millones de años, especialmente al período Devonico, a partir del cual las plantas acuáticas con la ayuda de las micorrizas, consiguieron colonizar el medio terrestre hasta lo que son hoy en día. Azcón y Barea, 2015, afirman que estas asociaciones están presentes en casi todos los grupos de plantas terrestres. Aparecen en Briofitos, sobre todo en Hepáticas, muchos Pteridófitos, en todos los grupos de Gimnospermas y en la mayoría de Angiospermas. (p.372) El rol de las micorrizas en la relación suelo/planta ha sido objeto de estudio, y cada vez mayor cantidad de resultados apuntan a la eficiencia que la misma representa para las plantas.

La simbiosis de la micorriza arbuscular está formada por las raíces de más del 80 % de las especies de plantas terrestres y los hongos Zigomicetes del Orden Glomales. Los efectos benéficos de esta simbiosis suceden como resultado de un diálogo molecular complejo entre los socios simbióticos. La identificación de las moléculas involucradas en este proceso es un prerequisite para una mayor comprensión de la simbiosis. Hay evidencia de los eventos de señalización-reconocimiento en diferentes estados de las interacciones planta-hongo en la micorriza arbuscular, pero no se conoce la naturaleza de las moléculas señal y los procesos de percepción-transducción. Para conocer el potencial de la micorriza arbuscular en la agricultura sustentable, es preciso identificar las moléculas principales de la interacción planta-hongo. Existen numerosos métodos disponibles para el análisis molecular de los hongos arbusculares que ayudan a comprender la interacción dinámica entre las plantas y éstos. (Camarena, 2012, p.421)

Según Camarena, (2012) la micorriza, representa a los órganos de absorción de la mayoría de las plantas en la naturaleza. Esta asociación cumple una función muy importante en la explotación eficaz de los recursos minerales del suelo y en la protección de las raíces contra una serie de patógenos. Por ello, las micorrizas son fundamentales para la supervivencia de muchos taxones de plantas en diversos ecosistemas y áreas de cultivos.

En la actualidad es prioritaria la búsqueda de alternativas nutrimentales que disminuyan el impacto de los fertilizantes químicos en la agricultura, constituyendo la actividad biológica del suelo y los microorganismos un aspecto muy importante, debido a que incrementan la eficiencia

en la absorción de nutrimentos, formando parte de los sistemas integrales de nutrición vegetal

Las micorrizas arbusculares son el resultado de la asociación mutualista entre algunos hongos del suelo y la raíz de la mayoría de las plantas. En ella, el micelio del hongo coloniza la corteza radical a modo de endófito y proyecta sus hifas tanto al interior como al exterior de la raíz. Frank, en el año de 1885, nombró a la simbiosis entre hongos y las raíces de las plantas como "Micorriza". Entre las asociaciones de micorrizas, la asociación micorriza arbuscular es la más común. Se estima que más del 80% de las plantas terrestres forman este tipo de asociación. Estas incluyen muchas especies de cultivo importantes en la agricultura y horticultura. (Smith y Read, 2009)

Se reconocen varios tipos de micorrizas, los cuales se presentan en el ecosistema en función de características relacionadas con la presencia de fósforo y nitrógeno, tanto orgánico como inorgánico, y su relación con el tipo de vegetación dominante. Dentro de éstos se encuentran: a) micorriza orquideode; b) micorriza ericoide; c) micorriza monotropoide; d) micorriza arbutoide; e) ectomicorriza, y f) micorriza arbuscular (Alarcón, (2007), pp90-118

La clasificación de los hongos formadores de la micorriza es complicada y ha sufrido numerosos cambios a lo largo de las últimas décadas. Hasta finales del año 2000 estos hongos formaban parte de la clase de los Zigomicetos, y se agrupaban en un solo orden, los Glomales. Según *Schöbber, et al, (2011)*, este orden estaba constituido por dos subórdenes (Glominae y Gigasporinae), tres familias (Glomaceae, Acaulosporaceae y Gigasporaceae) y seis géneros (Glomus, Sclerocystis, Acaulospora, Entrophospora, Gigaspora y Scutellsopora). Actualmente se considera que pertenecen al Phylum Glomeromycota con más de 150 especies descritas. (p. 163)

Dentro de los presupuestos que han acelerado la aplicación de las micorrizas en las plantas, se encuentran el impacto que estas producen en su protección contra plagas y enfermedades, ya que las plantas son capaces de adaptarse a condiciones hostiles en su entorno mediante mecanismos de percepción y respuesta de su sistema inmune.

Prager, et al. (2001) afirma que como consecuencia de una estimulación previa, la respuesta del

sistema basal de defensa ante el ataque por un patógeno o insecto es más rápida y contundente, respuesta que es potenciada por la micorrización y que permite una defensa natural más fuerte en las plantas que han sido micorrizada, en relación a las que no asimilan la simbiosis, y favorece la protección fitosanitaria.

En el caso concreto del ataque de patógenos o insectos, tal potenciación de las defensas naturales de las plantas por micorrizas traen como consecuencia una mayor resistencia de la planta frente a enfermedades y plagas. Se puede hablar, por tanto, de una Resistencia Sistémica Inducida (RSI) por micorrizas, fundamental en el control biológico de patógenos, insectos y plantas parásitas. Se conocen los mecanismos moleculares implicados en la RSI. (Pozo, et al, 2015, p.1436.)

La aplicabilidad a nivel agronómico de estas actividades de protección frente a enfermedades y plagas es aún limitada, pero se progresa en este sentido y se están diseñando estrategias que optimicen dicha capacidad y seleccionar los hongos micorrízicos más eficaces a tal fin. Ruiz-Lozano, et al, (2016) plantea que una de las estrategias que sigue la planta para adaptarse y resistir a situaciones de sequía y salinización está basada en su capacidad para formar micorrizas. Por lo que se les reconoce un papel fundamental para protegerlas frente a esos efectos (p. 441.452), habilidad que ha sido ampliamente estudiada por ser un mecanismo que puede mejorar la producción agrícola en las zonas afectadas por dichos factores de estrés.

Las expectativas de investigación de la simbiosis micorrizas-plantas siguen siendo muy amplias según Finlay (2004), se ha puesto énfasis en una perspectiva multifuncional más amplia, incluyendo los efectos de la simbiosis micorrízica sobre las comunidades vegetales y microbianas, así como en los procesos del ecosistema. Es relevante la movilización de N y P a partir de polímeros orgánicos, la liberación de los nutrientes de las partículas minerales, los efectos sobre el ciclo del carbono, la mediación de la respuesta de las plantas a factores de estrés como la sequía, la acidificación del suelo, metales tóxicos y patógenos de plantas, así como una amplia gama de posibles interacciones con grupos de otros microorganismos del suelo, de ahí la necesidad de continuar investigaciones en diferentes especies promisorias para la agricultura. (p.95).

En la agricultura, el uso de micorrizas tiene un gran potencial biotecnológico debido a que facilitan la disponibilidad de nutrientes para las plantas, por lo tanto, plantas micorrizadas poseen una ventaja importante con respecto a las plantas no micorrizadas". Sin embargo, el conocimiento sobre las interacciones entre las condiciones edáficas y la ecología de los HMA nativos y la efectiva asociación simbiótica entre las plantas y estos microorganismos es limitado. Se utilizan dos métodos importantes para manejar los HMA, uno de ellos es trabajar con hongos nativos con el fin de obtener el mejor beneficio de ellos, estimulando uno o varios de los géneros después de que han sido determinados, y el otro es introducir o inocular con HMA seleccionados que puedan ser manejados con prácticas agronómicas que ya hayan sido utilizadas con estos hongos. (Klironomos, 2003).

El problema de este método está en que la inoculación puede alterar la acción de HMA nativos eficientes, al tener que competir con los hongos seleccionados. Sin embargo, es una opción importante ya que sistemas de monocultivos reducen la abundancia de las especies fúngicas, debido a que limitan los beneficios que le proporcionan los HMA a la planta, al seleccionarlos. La dualidad del uso de estos métodos puede depender de la disponibilidad e intereses de los productores que asuman la biofertilización como una alternativa.

En Chile, en estudios en invernadero donde se han empleado HMA nativos y comerciales para inocular suelo nativo de cultivos de pimentón, las plantas sometidas al tratamiento con HMA nativos presentaron mejores resultados que las plantas inoculadas con HMA comerciales. Lo mismo sucedió en la aclimatación de plantas micropropagadas de banano (*Musa sp gran enano*), al ser inoculadas con HMA provenientes de suelos bananeros de Colombia (Usuaga, et al, 2008, 4279).

El papel de la simbiosis es fundamental en la captación de elementos minerales de lenta difusión en los suelos, como los fosfatos solubles. La absorción de N también se favorece con la micorrización. Otros elementos como K y Mg se encuentran a menudo en concentraciones más altas en las plantas micorrizadas. La absorción de calcio es estimulada también con la simbiosis según Rillig, 2004.

Entre los microorganismos del suelo, los HMA son importantes en la formación y estabilización de los agregados del suelo, los hongos son frecuentemente el mayor componente de la biomasa microbiana en los cultivables, el tamaño y la distribución de la población fúngica está relacionada con la materia orgánica aportada (Barea, et al, 2007, p. 211-219,). Dentro de estos, los HMA son simbioses asociados a la mayoría de las plantas terrestres. Sus efectos sobre la agregación del suelo han recibido recientemente atención especial. Sin embargo, la implicación de este fenómeno no está todavía clara. Existen consideraciones teóricas que dan particular importancia a los HMA sobre la agregación del suelo. (Rillig, 2004). En la mayoría de los casos, los autores coinciden en un efecto favorable de las cualidades físicas del suelo por la presencia de exudados radicales y el micelio externo del hongo y su distribución en el suelo.

No ha sido bien documentado el efecto que los herbicidas puedan tener sobre la actividad de los HMA en el suelo, sin embargo, dada la naturaleza biológica de los productos basados en estos hongos no se recomienda hacer aplicaciones de herbicidas sobre la aplicación de HMA nativos o comerciales. Koide y Mosse, 2004, refieren que el uso común de pesticidas también tiene efectos, aunque contradictorios, en la acción de los HMA, porque dependiendo del suelo y del cultivo, puede haber un efecto estimulador, depresivo o no significativo sobre el hongo (p.145). Insecticidas o fungicidas biológicos basados en especies de *Bacillus* y *Trichoderma* son recomendados como controles de plagas donde se aplican HMA.

La utilización de los hongos micorrízicos debe ser considerada en el diseño de cualquier sistema de producción agrícola, ya que, además de ser componentes inseparables de los agroecosistemas, realizan diversas e importantes funciones en su asociación con las plantas. Smith y Read, (2009). Entre ellas destacan: aprovechamiento más eficiente de los nutrientes en la zona radical a partir de un aumento en el volumen de suelo explorado, mayor resistencia a las toxinas, incremento de la traslocación y solubilización de elementos esenciales, aumento de la tolerancia a condiciones abióticas adversas (sequía y salinidad), así como cierta protección contra patógenos radicales.

Atendiendo a los criterios anteriormente expuestos, en la década de los 90, el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) inició un amplio programa de investigaciones básicas con estos

simbiontes y como resultado se obtuvo un biofertilizante de formulación sólida registrado como EcoMic® (Fernández, et al, (2000), con alto grado de pureza y estabilidad biológica. Mujica, (2012) refiere que el empleo del EcoMic® ejecutó estudios que mostraron resultados satisfactorios en viveros de especies forestales, cereales como el arroz cultivado en condiciones de estrés salino, trigo duro y en hortalizas como el tomate. (p.75)

El efecto de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) sobre los indicadores de crecimiento y desarrollo de las plantas ha sido ampliamente demostrado en la agricultura, horticultura y sistemas forestales. Si bien es conocido que los HMA favorecen la nutrición de las plantas, lo que se traduce en un aumento de la translocación de nutrientes del suelo hacia la planta a través de las hifas del hongo, es vital destacar el papel de estos simbiontes en la estabilidad de agregados en el suelo, y lo que esto representa para la conservación, ya que, aunque sean resultados a mediano o largo plazo, los mismos contribuyen al mejoramiento y recuperación de los suelos agrícolas (Anwar,et al, 2008, p).

Diversos estudios han demostrado los efectos benéficos de la asociación simbiótica entre los HMA y las plantas (Akhtar y Siddiqui, 2008), tales como: Incremento en la superficie de absorción, de agua y de nutrimentos, de los pelos radiculares, más la que se produce por la cobertura producida por el hongo, Incremento de la vida útil de las raíces absorbentes, Mejoramiento de la absorción iónica y acumulación eficiente, especialmente, en el caso del fósforo, solubilización de minerales que se encuentran en el suelo, facilitando su absorción por las raíces de las plantas. Aumento de la capacidad fotosintética de la planta, por ende, la producción de biomasa de las plantas y resistencia de raíces a infecciones causadas por patógenos, ocupación de los espacios radiculares. Incremento de la tolerancia de las plantas a toxinas del suelo (orgánicas e inorgánicas), valores extremos de acidez del suelo y disminuye el estrés causado por factores ambientales (Anwar, et al.,2008).

Según Beauchamp, et al, (2009) existe una mayor atención en observar la interacción de los HFM con las comunidades microbianas de la rizósfera y las repercusiones en las plantas hospederas. La nueva perspectiva incluye el estudio de la multifuncionalidad de los HFM, en procesos como:

movilización de N y P a partir de polímeros orgánicos, posible liberación de nutrientes de las partículas minerales o de roca, efectos sobre el ciclo del carbono, interacciones con plantas heterótrofas, mediación de respuestas de las plantas a factores de estrés, como la sequía, la acidificación del suelo y la salinidad. Hause y Schaarschmid, 2009, subrayan también la biorremediación de suelos contaminados con compuestos tóxicos y metales pesados, protección contra patógenos de plantas, posibles interacciones con grupos de otros microorganismos del suelo e inducción de resistencia sistémica en plantas. (p.1589)

La complejidad de las interacciones planta-suelo-microorganismos-ambiente son variadas; una comprensión completa de todas las relaciones en cuestión es poco probable; sin embargo, para Sturz y Christie, 2003, los efectos benéficos de las interacciones que estimulan los rendimientos de los cultivos y mejoran la sanidad de las plantas pueden ser evaluados y quedar en evidencia algunas estrategias generales de la interacción (p.107)

La simbiosis micorrízica arbuscular es el resultado evidente de la interacción entre las raíces de las plantas y un hongo, así como es un excelente ejemplo de las extensas alteraciones morfológicas que las raíces experimentan con el fin de acomodarse a la presencia de un simbiote. Los HMA reciben fotosintatos de la planta, mientras que esta mejora su habilidad para la toma de nutrientes. (Aggarwal, 2012, p.45)

Las micorrizas requieren un desarrollo planta (raíz)-hongo (micelio) sincronizado, pues las hifas fúngicas solo colonizan raíces jóvenes, excepto en orquídeas, en las que el hongo puede infectar células del tallo. Brundrett, (2002), plantea que la planta, en cualquier caso, es quien realmente controla la intensidad de la simbiosis, por el crecimiento de su raíz, pero también por la digestión de la interfase de intercambio, en las endomicorrizas, o por la formación de un singular tipo de raíz (secundaria y de crecimiento limitado), en el caso de las llamadas ectomicorrizas. La raíz constituye en realidad un nicho ecológico donde se desarrolla el hongo, que éste aprovecha. (p. 1110).

Esta disparidad de tipos y estrategias nutricionales son producto de un proceso prolongado y selectivo en cuanto a los grupos fúngicos beneficiados.

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HMA) son clave para garantizar la sostenibilidad del sistema suelo. La simbiosis entre el hongo micorrízico y la planta, puede ser utilizada como bio-inoculante para reducir la carencia de nutrientes en las plantas y para participar en procesos de agregación y retención del suelo por medio de mecanismos físicos, con el fin de aliviar los efectos causados por la erosión.

Oehl, et al, 2004 refiere que las investigaciones sobre las micorrizas en la calidad del suelo y en la agricultura sostenible se han enfocado, principalmente, en suelos de las zonas templadas. Sin embargo, dado que el funcionamiento de la asociación micorrízica depende de la interacción entre planta-hongo y el ambiente abiótico es, por tanto, necesario evaluar el rol que desempeñan las micorrizas en la fertilidad de los suelos tropicales (p. 580), en cuanto a la respuesta de inoculación y los resultados que puedan derivarse de la misma. La inoculación de las plantas ha sido el mecanismo más generalizado para la inclusión de estos simbiontes en los procesos agrícolas, lo cual provocó un ascenso en la producción de inoculantes micorrízicos, a partir del surgimiento de nuevas empresas y cadenas de distribuidores que orientaron sus estrategias a la obtención de productos en varias formulaciones (sólidos y líquidos). (Igiehon, et al., 2017).

Sin embargo, las experiencias prácticas con el empleo de estas formulaciones demostraron que no existe un portador universal y algunos reportes sugieren que la elección de los inoculantes depende de las características de los cultivos y las condiciones para su manejo

El manejo de la simbiosis micorrízica vía inoculación ha sido el mecanismo más generalizado para la inclusión de los HMA en las prácticas agrícolas actuales, en correspondencia con las características de las tecnologías de los cultivos y exigencias de cada especie vegetal. En tal sentido, la producción de inoculantes micorrízicos experimentó un ascenso (40 %) desde la pasada década en los continentes europeo (Reino Unido, República Checa, Alemania, Suiza, España y Francia), americano (Estados Unidos, Canadá, Chile, Perú, México, Colombia, Ecuador y Guatemala) y asiático. (Ohsowski, et al, 2014, 171)

En otras investigaciones se indicó que la selección y reproducción de especies de HMA constituye una etapa decisiva en proceso de formulación de los inoculantes (41) y destacaron la

participación directa de las colecciones internacionales [INVAM (<http://invam.wvu.edu>), IBG (<http://www.kent.ac.uk/bio/beg>) o GINCO (<http://www.mycorrhiza.be/ginco-bel/>)] en el aislamiento, caracterización y multiplicación de cepas, basados en criterios relacionados con su funcionamiento (capacidad de colonización y la tasa de germinación de las esporas). Recientemente, el empleo de nuevas técnicas en algunos países desarrollados (Canadá, China, Alemania y Bélgica) ha permitido incorporar los métodos moleculares (Sridevi, 2015).

Finalmente, *Leucaena leucocephala* es una leguminosa muy utilizada en bancos de proteína ya que puede proporcionar hasta un 22% de ésta, lo que la hace un forraje de buena calidad en la dieta de los animales. El desarrollo de dichos bancos permite sustituir el uso de concentrados de importación o la alimentación complementaria, por esto, la leucaena debe ser tratada como un cultivo de alto valor, tanto alimenticio como económico, además si se maneja adecuadamente puede persistir indefinidamente. Por estas razones, todas las inversiones que se hagan para su establecimiento están justificadas y serán recompensadas en términos económicos y de producción.

La explotación intensa de agrosistemas naturales y agropecuarios en los trópicos es la responsable de la degradación de los ecosistemas estables. Entre los cambios bióticos se incluye una disminución en la densidad de esporas de hongos micorrízico arbusculares (HMA), aspecto que no debe ser pasado por alto, debido al efecto de los HMA en el establecimiento y crecimiento de plántulas, lo que se ha demostrado a través de los resultados positivos obtenidos con plantas inoculadas con HMA al ser trasplantadas (Michelsen y Rosendahl, 1990).

Tomando en cuenta la importancia que la leucaena tiene como planta forrajera y su transformación a proteína animal para consumo humano y el tener una raíz pivotante, la hace un modelo de investigación importante para continuar el estudio de su relación con los HMA, además de que el uso de estos microorganismos permite lograr una agricultura sostenible que resulta práctica y económica, y también favorece el reciclaje de nutrientes para mejorar la fertilidad del suelo, por lo tanto, se convierte en una alternativa para contribuir al establecimiento de sistemas de producción sostenibles, competitivos y rentables. (Molina, et al, 2005, p.175.)

CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1) Localización, suelo y clima.

La investigación se realizó en un área demostrativa del Centro Universitario Municipal (CUM) Cumanayagua desde el 21 de diciembre del 2018 hasta el 11 de noviembre del 2019.

Para la realización del experimento se emplearon teniendo en cuenta el criterio de estudios anteriores de Hernández, et al, (2015) bolsas de polietileno horadadas con capacidad para 2 kg, en las que se depositó suelo del tipo Pardo Grisáceo con pH (KCl) 5.25, fósforo y potasio asimilable 1.43 y 12.77 mg 100g⁻¹ suelo respectivamente y 2.06% de materia orgánica. Las semillas de *L. leucocephala* presentan cubierta impermeable por lo que se escarificaron mediante un proceso de imbibición de las mismas en agua a 80°C durante 2-3 minutos previo a la siembra.

En el momento de la siembra se eliminó la costra superficial del suelo en las bolsas y se introdujeron 3 semillas por bolsas, las que se apretaron cuidadosamente de forma uniforme, sin permitir bolsas de aire.

2.2) Diseño, procedimiento y muestreo.

El experimento se condujo en un diseño de bloques al azar con 3 réplicas, y los siguientes tratamientos:

1. Suelo
2. Suelo + *Funneliformis mosseae*/ INCAM-2
3. Suelo + *Glomus cubense*/INCAM-4
4. Suelo + NPK

Las especies de HMA probadas se clasifican taxonómicamente de acuerdo a los siguientes autores: *Funneliformis mosseae*/ INCAM-2(Schüßler,et al.,2011) y *Glomus cubense*/INCAM-4(Rodríguez,et al., 2011),ambas procedentes de la colección de cepas de HMA del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) y producidas en el propio año del montaje del experimento.

Los inoculantes utilizados se multiplicaron en un *sustrato arcilloso* siguiendo el criterio de estudios de Fernández, et al, (2000). Cada inóculo contiene 30 esporas por gramo de sustrato de la especie de HMA a evaluar, así como abundantes cantidades de fragmentos de raicillas e hifas. La inoculación con los HMA se realizó por el método del recubrimiento, para lo cual se sumergieron las semillas en una pasta fluida, elaborada mediante la mezcla de una cantidad de inóculo sólido equivalente al 10% del peso de las mismas y agua, en una proporción de 60 ml de agua por cada 100 g de inóculo (Simó, et al, (2016).

La fertilización NPK en el tratamiento control se realizó 15 días después de la siembra, a razón de 125, 140 y 420 mg maceta⁻¹ de nitrógeno, fósforo y potasio, equivalentes a dosis de 25, 40 y 120 kg ha⁻¹ respectivamente. Posterior a cada corte se aplicó nitrógeno foliar al 100% de la dosis inicial en el tratamiento control. Las bolsas se rotaron cada 10 días entre replicas y tratamientos para contrarrestar el efecto de bordes.

El corte de establecimiento fue a los 63 días de emergidas las semillas. Se realizaron 5 cortes sucesivos a 5 cm sobre el suelo, en dependencia del comportamiento de los rebrotes en la planta madre y los factores abióticos.

2.3) Mediciones realizadas

Objetivo 1

Se determinó la masa fresca foliar en cada corte (g), materia seca (%) por gravimetría, así como nitrógeno en la biomasa (%) por digestión húmeda con H₂SO₄ + Se y colorimetría con el reactivo de Nessler y el contenido de fósforo por digestión con H₂SO₄ + Se, mediante el método del molibdo-vanadato de Paneque, et al, (2010). Se calcularon la producción de Biomasa (g bolsa⁻¹), porcentaje y producción Proteína bruta (g planta⁻¹) como sigue:

1. Producción de biomasa (g bolsa⁻¹) = (Masa Verde (g bolsa⁻¹) x % Materia seca /100
2. Proteína bruta (%) = nitrógeno en biomasa (%) x 6,25
3. Producción de proteína bruta (g planta⁻¹) = Producción de biomasa (g bolsa⁻¹) x Proteína bruta (%) /100

4. *Dependencia Micorrízica (IDM)*, según la fórmula de Siquiera y Franco (1988), citada por Rivera y Fernández (2003):

$$DM = \frac{\text{Biomasa variante inoculada} - \text{Biomasa variante Testigo}}{\text{Biomasa variante Testigo}} \times 100$$

Biomasa variante Testigo

Objetivo 2

A partir del rendimiento y calidad de la biomasa obtenida se seleccionaron las cepas de HMA con mejor respuesta para continuar la investigación en condiciones de campo.

Objetivo 3

A inicios del experimento y al final se tomaron muestras del suelo para determinar: pH en cloruro de potasio, por el método potenciométrico (NC ISO-10390, 1999a), materia orgánica por el método Walkley-Black colorimétrico (NC ISO-51, 1999b), fósforo (método colorimétrico de Oniani y potasio asimilable y, ambos por la Norma Cubana ISO-52 (ONN, 1999c).

Análisis estadísticos:

Todos los caracteres cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza por lo cual se procedió a efectuar un ANOVA. Para la discriminación de medias se utilizó la prueba de comparación múltiple de Tukey ($p \leq 0,05$), en los casos en que el ANOVA resultó significativo. Como herramienta de uso, el programa estadístico SPSS (versión 15.0).

CAPÍTULO 3: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La frecuencia de cortes realizada se aprecia en la Tabla 1. Las plántulas estuvieron sometidas al proceso de cortes durante 217 días con una frecuencia promedio de 51,33 días.

Tabla 1. Secuencia de cortes de *Leucaena leucocephala* (L.) Fuente: Elaboración propia.

Establecimiento	I corte	II corte	III corte	IV corte	V corte	Media y días totales.
26/2/19	2/5/19	20/6/19	31/7/19	18/9/19	11/11/19	-
63 días	65 días	48 días	41 días	48 días	53 días	51,33
	128 días	176 días	217 días	265 días	318 días	217

La Figura 1 muestra la cantidad de rebrotes en cada uno de los cortes. Hay un incremento de los mismos hasta el segundo corte en todas las variantes. En el tercer corte disminuye la cantidad, con un aumento en el cuarto corte y finalmente un declive ya en el quinto corte. A partir del 1er corte y en el acumulado todas las variantes difirieron estadísticamente entre sí, con el mayor valor en la fertilización NPK, seguida de *F. mosseae*. Las variantes inoculadas superaron al testigo. Se alcanzó un coeficiente de multiplicación por tratamientos de 16,60, 18,01, 16,91 y 18,48 respectivamente.

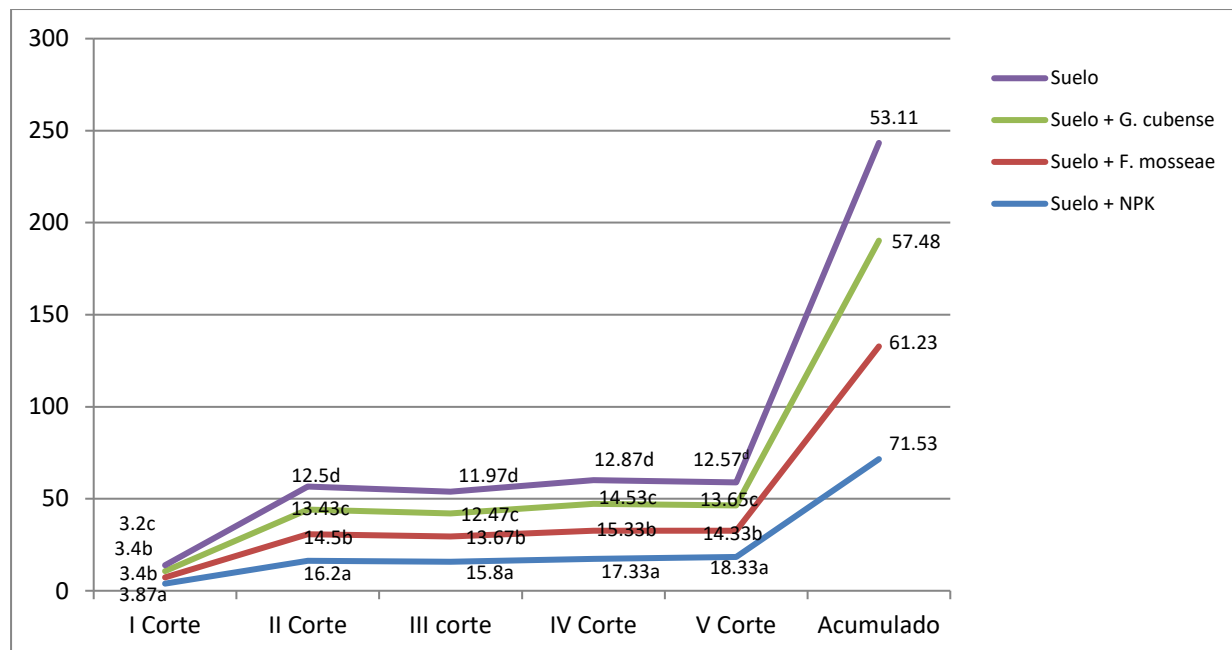


Figura 1. Cantidad de rebrotes por plantas en los cortes.

ES±: 0,250*, 1,475*, 1,499*, 1,671*, 2.27*

Letras distintas en la misma columna difieren entre sí, Tukey ($P \leq 0,05$)

Destacar que la mortalidad de los rebrotes fue ínfima, sin embargo, Singhala, et al, (2018) reportan para *L. leucocephala* en condiciones de campo una mortalidad del 57,34 % (p.223), valor que se considera como aceptable, que se atribuye fundamentalmente a que la planta al ser podada entra en estrés fisiológico lo que tiende a generar nuevos ejes en mayor cantidad, con el fin de restablecer los procesos de fotosíntesis y transpiración. Una vez generada la nueva cobertura foliar, elimina los ejes con menor grado de desarrollo o de menor aporte energético (la generación de azúcares por producto de la fotosíntesis es baja), lo cual incide que la mortalidad aumente de un 40 a 60 %. Se observó un crecimiento lento de los brotes, que se acentuó ya a partir del tercer corte, sin embargo, las plantas mantuvieron buen vigor y estado fitosanitario en el tiempo.

Flores, et al., (2008), evaluaron el efecto de la época, altura de corte, y densidad de siembra en el manejo de rebrotes de árboles de *Leucaena macrophylla* Beneth, en una plantación experimental en Cortés, Honduras. El estudio encontró que el manejo de rebrotes de la especie *L. macrophylla* no mostró diferencias en el porcentaje de mortalidad entre la época seca y lluviosa (promedio de 57,34 %), sin embargo, la época seca mostró una mayor cantidad de rebrotes que en la época lluviosa. En ambos casos se dio una dominancia del rebrote de tipo epicórmico (p.127)

Por su parte, Reda, et al., (2010) determinaron que la época seca generó en *L. leucocephala* una cantidad significativamente mayor (4,68 rebrotes/planta), con respecto a la estación lluviosa (1,78 rebrotes/planta) (p.309). Esta diferencia concuerda con estudios en especies arbóreas perennes tropicales, encontrando que un aumento de los rebrotes en época seca es una respuesta mecánica al estrés hídrico que presenta la planta. No se comportó así en el presente trabajo, donde la mayor cantidad de rebrotes estuvo en el período lluvioso, aunque el exceso de humedad no favoreció el crecimiento de los mismos.

Respecto a la altura de corte, Medina, et al, (2007) refieren que el corte bajo (10 cm sobre el nivel del suelo) favorece un crecimiento más acelerado de la planta, debido a que quizás este comportamiento constituye una estrategia de supervivencia de la especie (p.480). Dado que el experimento se realizó en condiciones semi-controladas (bolsas), la altura practicada fue a 5 cm sobre el suelo, y el mismo permitió una capacidad de rebrote estable, sin afectar a las plantas

madres. Señalar que la emergencia de las semillas y la supervivencia en los tratamientos superaron el 97 %, sin diferencias.

El éxito de la supervivencia de plántulas en el campo aumenta con la asociación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) hasta en un 54 %. Estos llegan a formar una asociación simbiótica a través de raíces secundarias de la mayoría de las plantas. En el experimento no hubo diferencias de la supervivencia en relación a la micorrización, lo que pudiera indicar que el tiempo entre la inoculación y la emergencia de las plántulas es muy corto, y todavía no son evidentes los efectos de la simbiosis para esta etapa fenológica de la planta de *L. leucocephala*.

Flores, et al, (2008), evaluaron la respuesta de *Glomus intraradices* y *Glomus etunicatum* en el crecimiento de *L. leucocephala* bajo condiciones de vivero, y encontraron que en las plantas inoculadas con ambos hongos la altura óptima de trasplante (30 cm) se alcanzó a los 83 días, en lugar de los 90 a 120 días normalmente requeridos (p. 127). Los valores más altos se registraron en todas las variables de las plantas inoculadas con *G. intraradices*. Los autores concluyeron que esta especie constituye una opción para asociarse simbióticamente con leucaena durante su estancia en el vivero y permite obtener plantas vigorosas que podrán superar mejor el trasplante. (p.127). En ese mismo sentido, destacar que las cepas de HMA evaluadas en el presente trabajo pertenecen también al género *Glomus* y ambas mostraron mejor respuesta que un testigo sin inoculación.

La Figura 2 refleja la producción de biomasa en el corte de establecimiento. Se aprecia como el tratamiento con la fertilización mineral superó estadísticamente al resto de las variantes evaluadas, a continuación del tratamiento 2 (*Funneliformis mosseae*), el cual difirió estadísticamente del Testigo y de *Glomus cubense*, la otra cepa inoculada.

La mayor producción de biomasa se obtuvo en el tratamiento donde se aplicó el fertilizante mineral de base y posterior a cada corte. Por su parte, las dos variantes micorrizadas superaron al testigo. La cepa *F. mosseae* difirió estadísticamente de *G. cubense* y mostró la mayor biomasa con 3.52 g bolsa⁻¹. Resultó favorable la respuesta de *L. leucocephala* a la inoculación con estas especies de HMA, lo que representa una alternativa de nutrición que pueden utilizar los productores, al permitir un mejor establecimiento de la planta en esta fase.

Según Turrini, et al, 2018, una de las opciones para incrementar la producción mediante el enfoque orgánico sustentable es, el empleo de microorganismos rizosféricos que promuevan el crecimiento vegetativo y ayuden a las plantas frente a diversos escenarios de producción. Al respecto, los hongos formadores de micorrizas, son microorganismos simbióticos obligados que colonizan la raíz de la mayoría de especies de plantas. La relación simbiótica de los HMA promueve el crecimiento de las plantas hospederas y hace que las raíces de estas puedan convivir con más de una especie de HMA

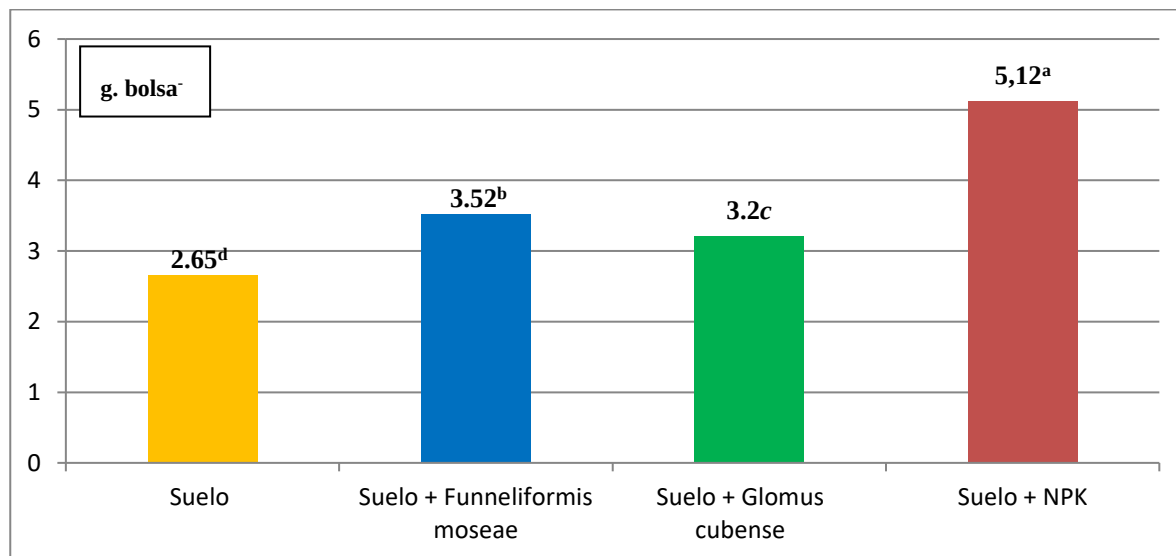


Figura 2. Producción de biomasa en el corte de establecimiento.

ES $\pm$: 0.955*

Letras distintas en la misma columna difieren entre sí, Tukey ($P \leq 0,05$)

Perin, et al, (2006) platearon que la influencia de las raíces de las plantas en la rizosfera, constituye una zona de interacciones únicas y dinámicas entre las raíces y los microorganismos atraídos hacia ellas por los exudados radicales, lo que resulta comprensible en el análisis de la figura anterior, si se tiene en cuenta que el crecimiento de la planta de leucaena se desarrolló en bolsas, con un área vital limitada, y donde estas interacciones podrían ser más marcadas e incluso a nivel de micorrizosfera, donde ocurren procesos en las etapas previa de reconocimiento planta-hongo y la posterior colonización de la raíz.

En la Tabla 2 se refleja la producción de biomasa por planta (g planta⁻¹) en los cortes que se

realizan y el acumulado. Se aprecia, que en los dos primeros cortes los tratamientos inoculados y la variante con fertilización mineral incrementaron la producción de biomasa, mientras que el testigo la redujo. Por su parte en el tercer corte todos los tratamientos decrecieron. Esta respuesta pudo estar dada por un incremento de las precipitaciones entre el segundo y tercer corte (112,8 mm), que provocó una sobresaturación de humedad del suelo en la bolsa y afectó el crecimiento foliar, con menor cantidad y tamaño de los rebrotes. A partir del cuarto corte aumentó nuevamente la producción de biomasa en todos los tratamientos, la que se extendió hasta el quinto corte. No hubo incidencia de plagas ni enfermedades durante todo el período en que las plantas estuvieron sometidas a cortes.

La respuesta de la producción de biomasa en la acumulación estuvo dada por el comportamiento en cada uno de los cortes. De acuerdo a las precipitaciones alcanzadas, las plantas en 217 días (7,23 meses) recibieron 768.3 mm de lluvia.

El análisis estadístico en cada corte mostró la mayor cantidad de biomasa en el tratamiento que recibió la fertilización mineral de base y nitrógeno por cortes, que difirió del resto. Por su parte las variantes inoculadas con las cepas de hongos micorrizicos superaron al testigo. Al comparar entre las dos cepas, se aprecia que *F. mosseae* tuvo mejor respuesta en la producción de biomasa por cortes que *G. cubense* (aunque en algunos cortes no tuvieron diferencias estadísticas). El acumulado mostró similar comportamiento entre los tratamientos. La variante fertilización mineral y el testigo alcanzaron la mayor producción de biomasa y la más baja respectivamente (28,57 y 13,71 g. planta⁻¹). La inoculación superó al testigo entre un 19,40 % y 833,40 % respectivamente.

Tabla 2. Producción de biomasa (g. planta⁻¹) por cortes y acumulado.

Fuente: Elaboración propia.

Tratamientos	I Corte	II Corte	III Corte	IV Corte	V Corte	Acumulado
Suelo	2,92 ^c	2,72 ^d	2,58 ^d	2,73 ^d	2,76 ^d	13,71 ^d
Suelo + <i>F. mosseae</i>	3,39 ^b	3,70 ^b	2,89 ^b	3,99 ^b	4,06 ^b	18,29 ^b
Suelo + <i>Gcubense</i>	3,35 ^b	3,66 ^{bc}	2,76 ^c	3,23 ^c	3,28 ^c	16,37 ^c

Suelo + NPK	5,28 ^a	5,92 ^a	4,54 ^a	6,40 ^a	6,43 ^a	28,57 ^a
ES±	0,934*	1,223*	0,618*	1,469*	1,459*	1,987*

Letras distintas en la misma columna difieren entre sí, Tukey ($P \leq 0,05$)

Ojeda, et al, (2018), evaluaron en un suelo Pardo grisáceo el efecto de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) sobre el rendimiento y la calidad del forraje de *Canavalia ensiformis* en la fase de establecimiento. Concluyeron que las cepas de HMA inoculadas superaron al testigo en el rendimiento de biomasa, proteína bruta y extracción de macro-nutrientes del suelo, con la mayor efectividad en la cepa *F. mosseae*/INCAM-2, que a su vez mostró el Índice de Eficiencia Micorrízica más alto con 90,8 %. Resulta coincidente en ambos casos, el efecto superior de *F. mosseae*/INCAM-2 en relación a otras especies de micorrizas inoculadas y al testigo, en el mismo tipo de suelo, lo que indica su efectividad en suelos de pH ácido, como son los Pardos Grisáceos.

La Figura 3 refleja la Eficiencia Micorrízica (EM) en el establecimiento y acumulado. Se aprecia un mayor IEM en la fase de establecimiento, el cual disminuyó en el acumulado de los cinco cortes sucesivos que se realizaron. La mejor respuesta del rendimiento en relación a la especie de HMA inoculada estuvo en *F. mosseae* (INCAM-2), tanto en el establecimiento, como en el acumulado con porcentajes entre 33,02 y 20,75 respectivamente.

Puede considerarse fundamental para garantizar una buena eficiencia de la inoculación en condiciones de campo, según Herrera, et al., (2011) la poca especificidad que muestran las asociaciones micorrízicas en la naturaleza, donde las hifas que emergen de raíces micorrizadas vivas son capaces de conectar plantas de iguales o diferentes especies a través de extensas redes de micelio (p.183). En los resultados que se discuten, las especies de HMA evaluadas pertenecen al mismo género, y sin embargo hubo diferencias en la respuesta de la planta hospedera (rendimiento y eficiencia micorrízica). Se aprecia, además, cómo disminuye en el tiempo la dependencia micorrízica (desde los 63 días en que se realizó el corte de establecimiento hasta 318 días, donde concluyó el 5to corte).

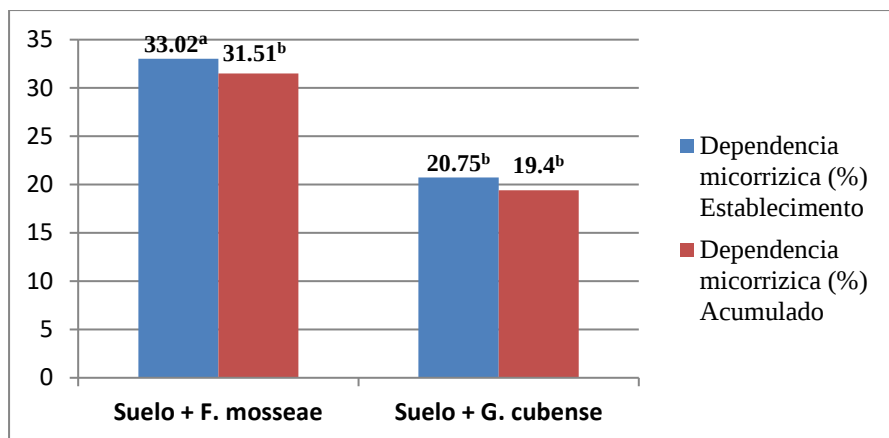


Figura 3. Índice de Eficiencia Micorrízica en el establecimiento y acumulado de cortes.

ES±: 2,629*, 3,617*

Letras distintas en la misma columna difieren entre sí, Tukey ($P \leq 0,05$)

Ojeda, et al., (2015), al evaluar el efecto que ejerce la aplicación de diferentes dosis de MicoFert agrícola (250, 500, 750 y 1000 gm lineal⁻¹) sobre el rendimiento de biomasa en *Leucaena leucocephala* cv. Perú en condiciones de campo en un suelo Pardo Grisáceo Perú, y tras realizar ocho cortes en dos años, con una frecuencia de 90 y 60 días en el período poco lluvioso y lluvioso respectivamente, a una altura de 25 cm sobre el suelo, concluyeron que la aplicación de MicoFert agrícola incrementó el rendimiento de biomasa de *L. leucocephala* en la variante micorrizada en relación al testigo y alcanzó una dependencia micorrízica entre 13 y 40 %, de forma proporcional al aumento de las dosis aplicadas del MicoFert.

La efectividad micorrízica es la capacidad de un endófito de influir positivamente sobre el crecimiento de la planta, su rendimiento, aumentar el número de propágulos o mejorar la transferencia de nutrientes. Es resultado de la interacción fisiológica entre los simbios, está determinada por el tipo de hongo micorrizógeno, la planta hospedante, la interfase simbiótica y el tipo específico de suelo o sustrato, su grado de fertilidad y disponibilidad de agua. El Índice de Eficiencia Micorrízica (IEM) contribuye a la selección de las especies de HMA inoculadas con mejor comportamiento a la simbiosis (Janos, 2007, p.78). De los planteamientos anteriores se deduce, que *F. mosseae* ha mostrado mayor efectividad micorrízica con mejor respuesta de la producción de biomasa, y un IEM superior a *G. cubense*, tanto en la fase de establecimiento,

como en el acumulado.

Hay especies de plantas que no son dependientes de los HMA en las primeras etapas de crecimiento debido a que tienen semillas con grandes reservas alimenticias, suficientes para las primeras fases de desarrollo, no obstante, en etapas posteriores, cuando las reservas se han acabado, ellas pueden convertirse en plantas micotróficas dependientes. Podría suponer que el tamaño menor de la semilla de *leucaena* facilita una dependencia desde edades tempranas de la planta.

Quilambo (2003), refiere que las especies de HMA no tienen especificidad en la elección de sus hospederos, sin embargo, diferencias en los efectos que causan sobre el crecimiento de los individuos que colonizan, indican que éstas responden a especies específicas de HMA, y consecuentemente, hay un aumento en la diversidad y productividad de las plantas en un ecosistema determinado, criterios que deben ser tomados en cuenta para seleccionar cepas promisorias y la aplicación de HMA a escala de producción.

En una selección de especies de HMA en *Crotalaria juncea* (L.) en un suelo Pardo Grisáceo de baja fertilidad natural con fines de abono verde y para forraje, Ojeda, et al, (2019), encontraron la mayor producción de biomasa en la fertilización mineral, mientras que *F. mosseae*, *G. cubense*, *Rhizoglosum irregulare* y *Claroideoglosum claroideum* superaron al testigo. Los autores anteriormente citados reportaron un ÍEM mayor en *F. mosseae*(58,74 %), seguido de *G. cubense*, (52,09 %), *Rhizoglosum irregulare* (41,26 %) y *Claroideoglosum claroideum* (31,84 %), sin embargo en el presente trabajo *F. mosseae* no superó el 35 % de ÍEM. La Dependencia micorrizica no se puede extrapolar a condiciones naturales donde se desarrolla la micorrización nativa (Fernández, 2003), tal es el caso del tratamiento testigo, el cual se emplea únicamente para determinar el efecto que se produce en el rendimiento de biomasa del cultivo evaluado por la inoculación de especies comerciales.

En la Figura 4 se aprecia el contenido de proteína bruta de *L. leucocephala* alcanzado en el establecimiento. El comportamiento muestra que la inoculación con *F. mosseae* superó al tratamiento Suelo y a Suelo + *G. cubense*. El valor más elevado se obtuvo en el Control NPK.

Rivera, et al, (2017b) comprobaron que la oferta forrajera con *leucaena* tiene un contenido de

proteína superior al 22 % y un menor contenido de fibra (20-30 %) respecto a la mayoría de los pastos tropicales, por su parte (p.183). Gualberto, et al, (2010) reportaron que en el contenido de proteína de los forrajes puede influir las partes de la planta empleadas para su análisis, tipo de suelo, programas de fertilización, temporada del año, entre otros, aspectos que la mayoría de publicaciones no aclaran (p.135). En este caso se tomaron las muestras conjuntas de rebrotes en todas sus partes (tallos y ramas), por lo que el valor alcanzado se corresponde con la totalidad de la parte aérea de la planta.

En una selección de especies de HMA en *Crotalaria juncea* (L.) en un suelo Pardo Grisáceo de baja fertilidad natural con fines de abono verde y para forraje, se encontró en la variante inoculada con *G. cubense* mayor contenido de proteína bruta en las flores (24,62 %) que en las ramas y hojas (17,18 %), mientras que *F. mosseae* reportó un 22,50 % y 18,39 % respectivamente contra un 21.37 % y 12,95 % del Testigo (Comunicación personal, Lázaro Jesús Ojeda Quintana, 2022).

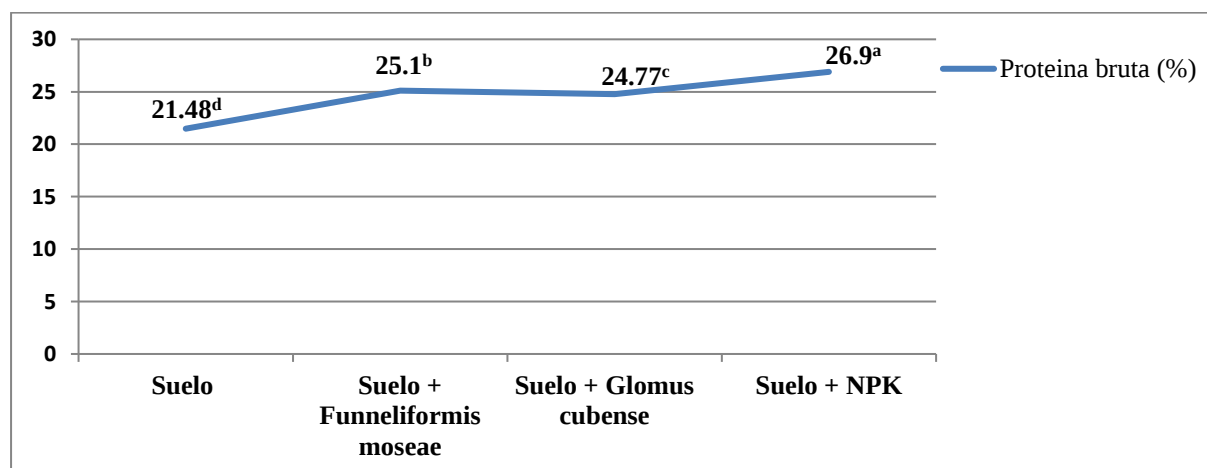


Figura 4 Contenido de proteína bruta en el establecimiento de *Leucaena leucocephala*

ES±: 2,057**Letras distintas en la misma columna difieren entre sí, Tukey ($P \leq 0,05$)*

La Tabla 3 muestra el porcentaje de proteína bruta por cortes. Se aprecia que *F. mosseae* superó en todos los cortes a los tratamientos Suelo y Suelo + *G. cubense*, variante esta, que en el 4to y 5to corte estuvo por debajo del porcentaje que se obtuvo en el tratamiento Suelo. El tratamiento Suelo + NPK mostró el mayor contenido de proteína bruta en cada corte foliar que se hizo. De

forma general, a partir del tercer corte, y hasta el quinto, hubo una caída del contenido de proteína bruta en todos los tratamientos. Esta situación pudiese estar dada por el tiempo de permanencia de las plántulas en la bolsa (217-318 días) y el estrés fisiológico que se deriva de los cortes foliares sucesivos bajo estas condiciones.

Tabla 3. Contenido de proteína bruta (%) por cortes. Fuente: Elaboración propia.

Tratamientos	I Corte	II Corte	III Corte	IV Corte	V Corte
Suelo	15,63 ^d	14,75 ^d	14,31 ^d	14,13 ^d	14,10 ^d
Suelo + F. mosseae	16,38 ^b	15,96 ^b	15,54 ^b	15,46 ^b	15,29 ^b
Suelo + G cubense	15,90 ^c	15,44 ^c	15,15 ^c	15,17 ^c	15,13 ^c
Suelo + NPK	25,15 ^a	21,38 ^a	20,79 ^a	20,31 ^a	20,25 ^a
ES±	3,726*	2,466*	2,632*	2,691*	2,487*

Letras distintas en la misma columna difieren entre sí, Tukey ($P \leq 0,05$)

Ojeda, et al, (2014), evaluaron en un suelo pardo Grisáceo de baja fertilidad natural de la Estación Experimental de Suelos y Fertilizantes “Escambray” y en terrenos de agricultores vinculados a la extensión rural la inoculación conjunta de *L. leucocephala* vc: Perú con la cepa IES-3: *Glomus spurgum*, de MicoFert Certificado y *Rhizobium loti* V-4033. Se encontraron valores de proteína bruta de 26,7 % en la variante micorrizada y de 30,2 % cuando se combinó con el *Rhizobium*, lo que indica la posibilidad de su utilización como alternativas para la biofertilización de esta leguminosa forrajera. (p.176)

La Figura 5 refleja la producción de proteína cruda (g planta⁻¹) en el corte de establecimiento y en el acumulado de los cinco cortes. Se aprecia una tendencia similar en el comportamiento de los tratamientos en ambos momentos. En orden creciente, la producción de proteína bruta fue mayor en Suelo + *G. cubense*, seguida de Suelo, Suelo+ *F. mosseae* y Suelo + aplicación de NPK.

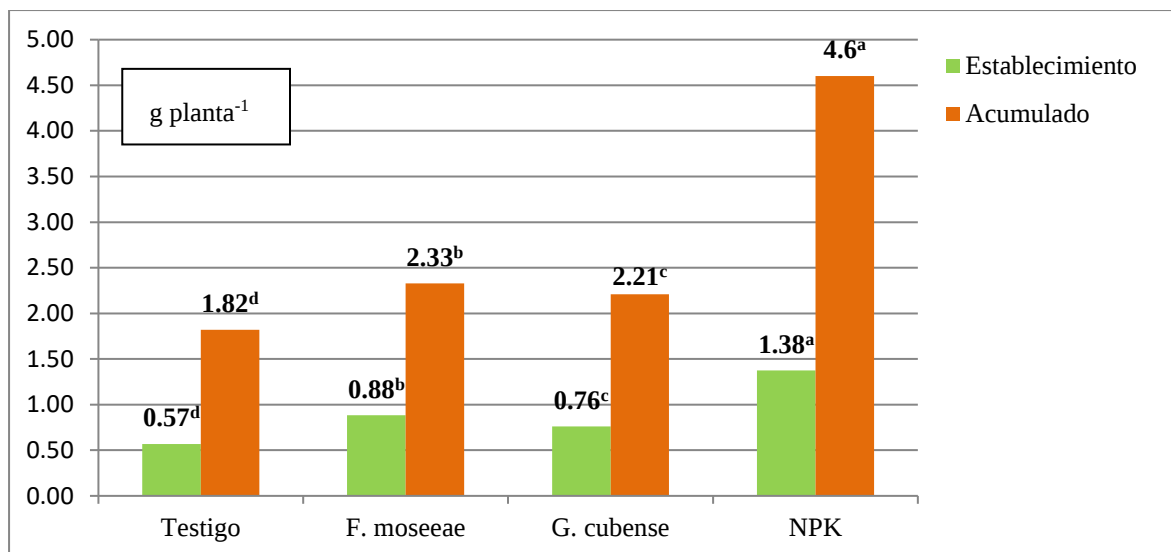


Figura 5. Producción de proteína bruta en el establecimiento y el acumulado de cinco cortes.

ES±: 0,361*, 1,133**Letras distintas en la misma columna difieren entre sí, Tukey ($P \leq 0,05$)*

La producción de proteína bruta (PB) en términos forrajeros constituye una variable muy importante para caracterizar la oferta de forraje que se le ofrece al animal, ya que contempla el rendimiento de biomasa sobre base seca de la planta forrajera a nivel de área, y el contenido de proteína bruta que se obtiene del análisis foliar en el laboratorio, ambos representan cantidad y calidad del forraje.

En la Figura 6 se aprecia como todos los tratamientos elevaron el pH del suelo en la rizosfera de la planta en relación valor inicial, aunque sin diferencias estadísticas entre sí, similar comportamiento tuvo la materia orgánica. Este comportamiento sugiere una influencia de las plantas de *L. leucocephala* sobre el suelo que incrementó los valores de estos indicadores, independientemente de la inoculación micorrízica.

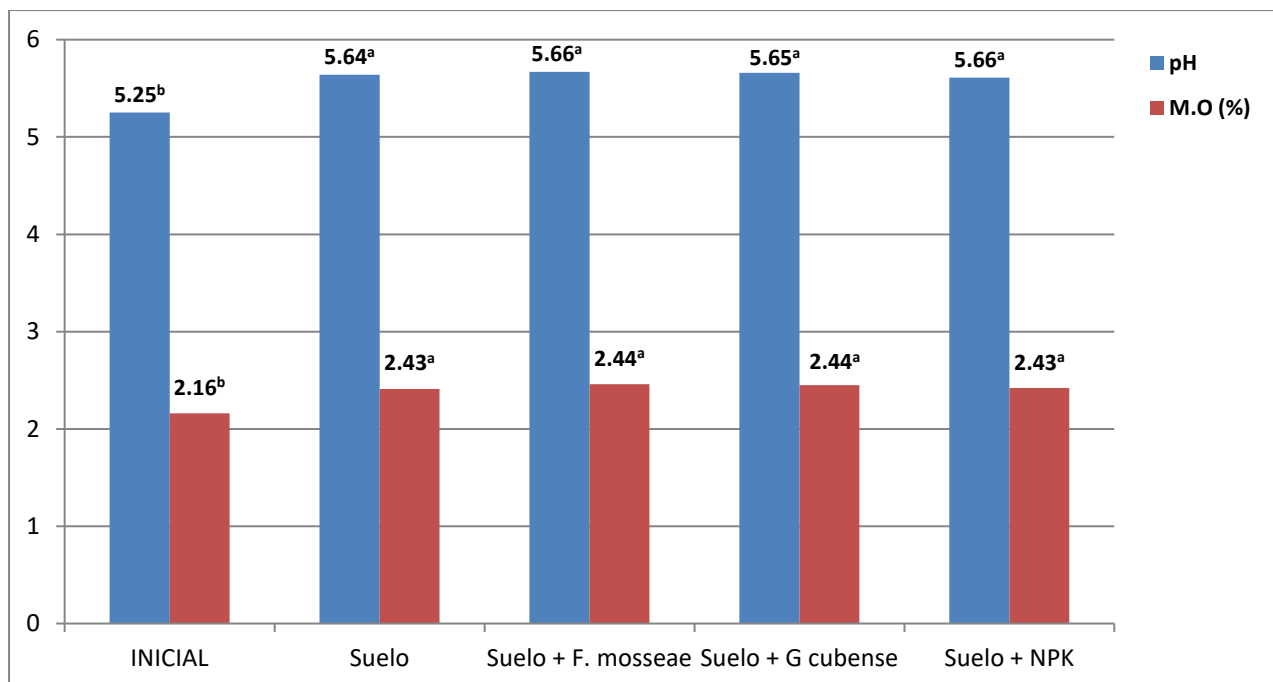


Figura 6. Valor del pH y contenido de materia orgánica del suelo en la rizofera

ES±: 0,166*,0,057*

Letras distintas en la misma columna difieren entre sí, Tukey ($P \leq 0,05$)

Al respecto, Smith y Read, (2008) consideraron que los HMA tienen una gran capacidad de dispersión y un gran número de hospedantes; estos hongos transforman las condiciones físicas, químicas y biológicas de la rizosfera (p.605), aunque los resultados alcanzados en el pH no sugieren este comportamiento. Por su parte la materia orgánica mostró una tendencia favorable a la micorrización.

En los estudios de selección de especies de HMA con alta eficiencia simbiótica, hay que tener en cuenta el efecto del pH, ya sea sobre la productividad de la asociación o sobre los mecanismos de reproducción fúngicos. Para Entry, et al., (2002), algunas especies de HMA no se adaptan a condiciones de pH diferentes al suelo nativo de donde fueron aisladas, por eso se considera al pH esencial en el establecimiento de especies de HMA por tipo de suelo (p.138). Estos criterios se tuvieron en cuenta para la selección de las cepas evaluadas, sin embargo, aún persisten vacíos en lo referente a la respuesta del suelo como ente biológico a la inoculación con micorrizas de forma intencionada, con un mayor énfasis en la propia rizosfera de las plantas.

Aunque la efectividad que puede ser obtenida por la inoculación depende del manejo dado a la planta y al suelo. Así, Rivera, et al, (2017), informan que los rangos de pH-H₂O encontrados y las cepas HMA eficientes en los mismos fueron: pH > 4,7–5,8 *F. mosseae* (INCAM -2), pH 5,6–7,2 *G. cubense* (INCAM– 4) y pH > 7– 8,3 *R. irregulare* (INCAM-11). La respuesta alcanzada por *F. mosseae* (INCAM-2) en el trabajo coincide con lo que plantean estos autores para un suelo ácido de baja fertilidad, y colocan a *F. mosseae* en un rango de pH favorable para lograr un comportamiento eficiente, de igual forma *G. cubense* encontró pH adecuado para establecer la simbiosis e influir en la respuesta de la planta.

Las plantas que crecen en contenedores (bolsas), especialmente las que duran confinadas por largos periodos, desarrollan mayor cantidad de raíces en el fondo y en el espacio entre el sustrato y las paredes del contenedor (Gallegos, et al., 2020). Esto se debe a que la compactación produce deficiencia de oxígeno y muerte de las raíces en el centro del contenedor, fenómeno que es más acentuado en sustratos compactados que presentan resistencia mecánica a la penetración radical y en sustratos con contenido alto de materia orgánica que entran en descomposición por microorganismos consumidores de oxígeno. Este comportamiento fue corroborado en todas las variantes del experimento, y sugiere una mejor conversión posible de materia orgánica.

De igual forma, los autores que se citan en el párrafo anterior, consideran que el crecimiento vertical hacia abajo es una respuesta natural al gravitropismo e hidrotropismo, típico de todas las raíces activas. Sin embargo, en contenedores (bolsas), esto resulta en una maraña de raíces en el fondo del contenedor expuestas a deficiencia de oxígeno por la competencia entre ellas, agravada con las frecuentes acumulaciones de agua, por lo que las arenas tienden a compactarse por la manipulación y los impactos físicos en la superficie del sustrato. Se observó al colectar el suelo de la rizosfera de las bolsas, una humedad alta, así como raíces fracturadas en los bordes de la bolsa, lo que muestra la tipicidad de los sistemas radicales que crecen en condiciones artificiales.

En la Figura 7 se observa el comportamiento del fósforo asimilable en el suelo de la rizosfera de las plantas de *L. leucocephala*. Se puede apreciar como en todos los tratamientos este valor se incrementó en relación al contenido inicial. Marcó la diferencia el tratamiento con fertilización mineral, mientras que las variantes micorrizadas no difirieron entre sí.

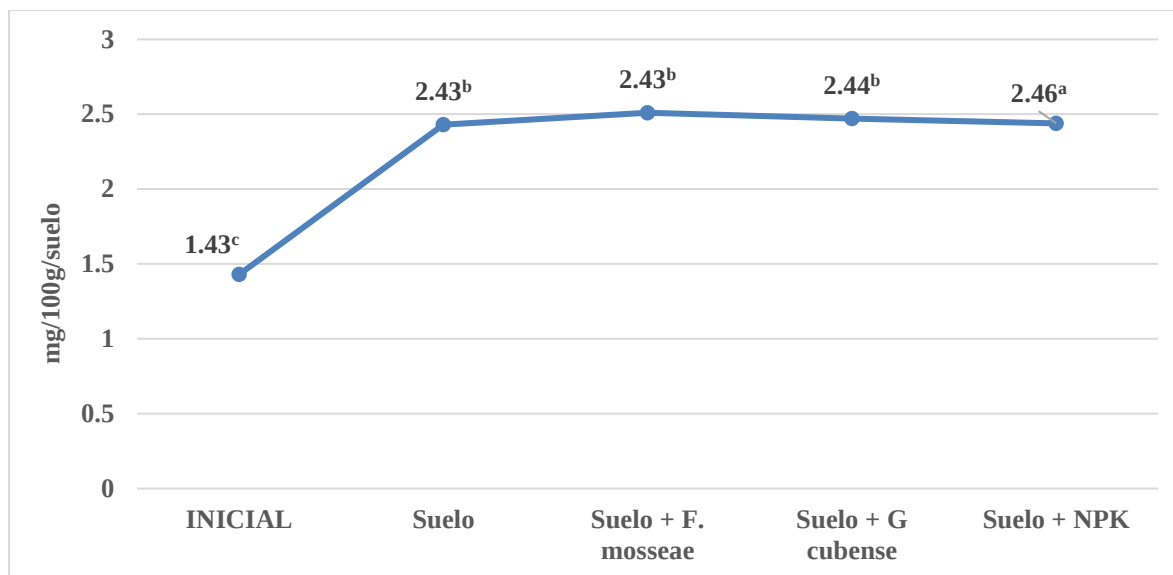


Figura 7. Contenido de fósforo en la rizosfera de *L. leucocephala*

ES±: 0,421* *Letras distintas en la misma columna difieren entre sí, Tukey ($P \leq 0,05$)*

La micorrizosfera es la zona del suelo afectada por la asociación micorrizica, la cual tiene dos componentes, la capa de suelo alrededor de las raíces micorrizadas y la otra es el suelo cercano a las hifas del hongo micorrizico (HM) o micelio externo que compone la hifósfera o micosfera. Las interacciones del (HMA) son múltiples e involucran microorganismos y microfauna en la micorrizosfera.

Este proceso biológico que se desarrolla a este nivel promueve las relaciones entre la planta y el hongo que resulta hospedero que resulta en una simbiosis, de ahí que reciban los primeros efectos de una simbiosis mutualista que puede resultar beneficiosa para ambas partes. La mejora del contenido de fósforo asimilable en la rizosfera resulta en un indicador importante a tener en cuenta para evaluar los resultados de la inoculación, y sugerir que la misma sea tomada en cuenta como ventaja para este indicador.

CONCLUSIONES

1. La frecuencia de cortes mostró una media de 51,33 días, y la explotación de las plantas se extendió hasta 217 días. Con la fertilización NPK se obtuvo la mayor cantidad de rebrotes y las variantes inoculadas produjeron más rebrotes que el testigo. Se alcanzó un coeficiente de multiplicación por tratamientos de 16,60, 18,01, 16,91 y 18,48 respectivamente.
2. La producción de biomasa acumulada de los cortes sucesivos fue mayor en la fertilización NPK, seguida de la inoculación con *F. mosseae*, sin diferencias de *G. cubense*. En todos los casos la inoculación superó al testigo entre un 19,40 % y 33,40 % respectivamente.
3. *F. mosseae* mostró mayor dependencia micorrizica, tanto en el establecimiento, como en el acumulado. Resulta evidente la disminución del efecto de la micorrización en el tiempo con porcentajes de 33,02 y 31,51 respectivamente.
4. El mayor contenido de proteína bruta foliar en el corte de establecimiento y en los cortes sucesivos se obtuvo en la fertilización mineral de base. Las variantes inoculadas superaron al testigo. A partir del primer corte disminuyó progresivamente la proteína bruta en todas las variantes.
5. Todos los tratamientos incrementaron el pH, contenido de materia orgánica y fósforo del suelo en la rizosfera de la planta, aunque sin diferencias estadísticas entre sí. No se puede suponer una influencia de la micorrización en la modificación alcanzada de los mismos.

RECOMENDACIONES

1. Evaluar en la fase de vivero la inoculación de *L. leucocephala* con las especies micorrízicas *F. mosseae* y *G. cubense*.
2. Extender las evaluaciones de producción y calidad del forraje de las plantas micorrizadas en la fase de vivero, una vez plantadas en áreas de campo.
3. Facilitar los resultados de esta investigación como material docente para contribuir al incremento del conocimiento en esta rama del saber e incorporarlo a la extensión agropecuaria.

REFERENCIAS

- Aggarwal, A.; Kadian, N.; Neetu, K.; Tanwar, A. & Gupta, K. K. (2012) Arbuscular mycorrhizal symbiosis alleviation of stress. *Journal of Applied and Science*, 4(1), 45-47.
- Akhtar, M.S. & Siddiqui, Z.A. (2008) Biocontrol of a root-rot disease complex of chickpea by *Glomus intraradices*, *Rhizobium* sp. and *Pseudomonas straita*. *CropProteccion Journal*, (27), 410-417.
- Alarcón A. (2007). *Micorriza arbuscular*. En: Ferrera-Cerrato Ronald, Alarcón Alejandro. Trillas.
- Alonso, J. et al. (2006). Efecto de la sombra en la gramínea asociada en un sistema silvopastoril de leucaena-guinea durante sus diferentes etapas. *Revista Cubana de Ciencias Agrícolas*, 503(40), 78-82.
- Anwar, Z.; Sayeed, M. & Futai, K. (2008). Mycorrhizae: sustainable agriculture and forestry. Internet. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8770-7>.
- Azcón-Aguilar, C.& Barea, J, M. (2015) Nutrient cycling in the mycorrhizosphere. In: L. Gianfreda, Biogeochemical processes in the rhizosphere and their influence on plant nutrition. *Special issue of the Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 15(2), 372-396
- Barea, M. H.; Hu, S.; Coleman, D. C. & Hendrix, P. F. (2007) Influences of mycelial fungi on soil aggregation and organic matter storage in conventional and no-tillage soils. *Applied Soil Ecology* 5(3), 211-219.
- Basch, G., (2012). Sustainable Soil Water Management Systems; in: Lal, R. and Stewart, B.A. (eds.): *Soil Water and Agronomic Productivity, Advances in Soil Science*, 229-288.
- Blanco, F.; Milera, Milagros de la C. (2012). Génesis y Evolución. Estación experimental “Indio Hatüey” Cinco decenios dedicados a la ciencia. *Revista anales de la Academia de Ciencias de Cuba* 3 (1), 276.
- Beauchamp, V.B.; Walz, C.; Shafroth, P.B. (2009). Salinity tolerance and mycorrhizal responsiveness of native xeroriparian plants in semi-arid western USA. *Applied Soil Ecology*. 43(3), 175-184.

- Brundrett, M. C. (2002). Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytologist*, 154(4), 275-304.
- Brundrett, Mark-C, Tedersoo. (2018). Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytologist*, 220(4), p. 1108–1115.
- Camarena-Gutiérrez. (2012). Interacción Planta-Hongos Micorrízicos Arbusculares. *Revista Chapingo*. 18(3), 409-421
- Castellanos-Navarrete A., Rodríguez-Aragone C., de Goede R. G. M., Kooistra M. J., Sayre K.D., Brussaard L., Pulleman M. M. (2012). Earthworm activity and soil structural changes under conservation agriculture; *Journal Soil & Tillage Research* 123, 61-70.
- Corredor, Gloria A. (2008). Micorrizas arbusculares: Aplicación para el manejo sostenible de los agroecosistemas. Internet <https://doi.org/turipana/micorrizahtml>
- Cruz, M. N. (1999) *Comportamiento agronómico y calidad nutritiva de especies de Leucaena en el Estado de Yucatán*. (Tesis de Maestría). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia/UADY. Mérida Yucatán.
- De Faccio Carvalho P. C., Anghinoni I., de Moraes A., de Souza E. D., C., Cassol Flores J .P., Terra Lopes M. L., Fontaneli R.S. & Bayer C. (2010). Managing grazing animals to achieve nutrient cycling and soil improvement in no-till integrated systems; *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. (2) 25-32.
- Elliott, A.-J.; Daniell, T.-J.; Cameron, D.-D. & Field, K.-J. A. (2020). Commercial arbuscular mycorrhizal inoculum increases root colonization across wheat cultivars but does not increase assimilation of mycorrhiza-acquired nutrients. *Plants, People, Planet*. Internet. <https://doi.org/10.1002/ppp3.10094>
- Entry, J. A.; Rygielwicz, P. T.; Watrud, L. S. & Donnelly, P. K. (2002). “Influence of adverse soil conditions on the formation and function of Arbuscular mycorrhizas”. *Advances in Environmental Research*, 7(1) 123-138,

- Fernández, F.; Gómez, R.; Vanegas, L. F.; Martínez, M. A.; de la Noval, B. M. & Rivera, R. (2000). Producto inoculante micorrizógeno. (Patente de Cuba. no. 22641). Oficina Nacional de Propiedad Industrial.
- Fernández, K., & Rivera, R. (2003). *Bases científico-técnicas para el manejo de los sistemas agrícolas micorrizados eficientemente*. En, R., Rivera & K., Fernández, *Manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible. Estudio de caso: el Caribe*. Ediciones INCA
- Finlay, R. D. (2004). Mycorrhizal fungi and their multifunctional roles. *Mycologist*. 18, 91-96.
- Flores, María del R.; Aguilar, S.; García, R.; Zamoraz, Alejandra; Farias, J. & López, J. G. (2008). Inoculación con hongos micorrízicos arbusculares y el crecimiento de plántulas de leucaena. *Terra Latinoamerica*. 26 (2), 127.
- Frew, Adam. (2020). Contrasting effects of commercial and native arbuscular mycorrhizal fungal inoculants on plant biomass allocation, nutrients, and phenolics. *Plants, People, Planet*, 2020. Internet <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ppp3.10128>
- Friedrich, T. (2014). Producción de alimentos de origen animal. Actualidad y perspectivas. *Ciencia Agrícola*, 48(1), 5-6.
- Gallegos, J.; Álvaro E. J. and Urrestarazu M. (2020). Container design affects shoot and root growth of vegetable plant. *Nova Science Publishers*. 14(2), 26.
- Giraldo, C; Escobar, F; Chará, J. & Calle, Z. (2011). The adoption of silvopastoral systems promotes recovery of ecological processes regulated by dung beetles in the Colombian Andes. *Insect Conservation and Diversity* 4(2), 115-122.
- Guadarrama, P.; Sánchez-Gallén, I.; Álvarez-Sánchez, J. & Ramos-Zapata, J. (2004). Hongos y plantas, beneficios a diferentes escalas en micorrizas arbusculares. *Revista Ciencias*, 73, 38-45.
- Gualberto, R., O. Souza, N. Costa, C. Braccialli, L. & Gaion. (2010). Influência do espaçamento e do estágio de desenvolvimento da planta na produção de biomassa e valor nutricional de *Tithonia diversifolia*. *Gray. Nucleus* 7(2), 135-149.

- Hause, B. & Schaarschmid, S. (2009). The role of jasmonates in mutualistic symbioses between plants and soil-born microorganisms. *Journal Phytochem.* 70, 1589-1599.
- Heredia, A. G. (2003). *Los hongos microscópicos en la descomposición de las hojas*. En: J. Álvarez-Sánchez & E. Naranjo-García *Ecología del suelo en la selva tropical húmeda de México*. Xalapa.
- Hernández, A.; Ascanio, O.; Morales, M.; Bojórquez, I.; Norma, E. & García, J. (2006). *El suelo: Fundamentos sobre su formación, los cambios globales*. Universidad Autónoma de México.
- Hernández-Jiménez, A.; Pérez-Jiménez, J. M.; Bosch-Infante, D. & Castro-Speck, N. (2015). *Clasificación de los suelos de Cuba*. Ediciones INCA.
- Herrera, R. A.; Hamel, C.; Fernández, F.; Ferrer, R. L. & Furrázola, E. (2011) Soil–strain compatibility: the key to effective use of arbuscular mycorrhizal inoculants? *Mycorrhiza*, 21(3), 183-193.
- Igiehon, N. O., & Babalola, O. O. (2017) Biofertilizers and sustainable agriculture: exploring arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied microbiology and biotechnology*. 101(12), 4871–81.
- Janos, D. P. (2007) Plant responsiveness to mycorrhizas differs from dependence upon mycorrhizas. *Mycorrhiza*, 17(2), 75-91.
- Kassam, A., Basch, G., Friedrich, T., Shaxson, F., Goddard, T. Mello, I., Pisante, M. & Mkomwa, S. (2013). *Sustainable Soil Management Is Morethan What and How Crops Are Grown*. In: R. Lal & B. A. Stewart *Principles of Sustainable Soil Management in Agroecosystems*, CRC Press, pp. 337-400.
- Kassam, A., Friedrich, T., Sims, B. & Kienzle, J. (2014). *Sustainable Intensification and Conservation Agriculture*. In CTIC, *SCCC Proceedings of the 6th World Congress on Conservation Agriculture*. Internet. <http://www.ctic.org/WCCA/Proceedings/Abstracts/>.
- Klironomos, J. (2003). Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology*, 84(9), 2292-2301.

- Koide, R. & Mosse, B. (2004). A history of research on arbuscular mycorrhiza. *Mycorrhiza*, (14), 145-163.
- Laquihon, W.A. & Pagbilao, M. V. (1994) *Sloping Agricultural Land Technology in the Philippines*. En R. C. Gutterigge & H. M. Shelton *Forage tree legumes in tropical agriculture*. CAB International.
- Lascano, C. (2004). *Prevención, reducción y rehabilitación de tierras degradadas en los trópicos, un desafío para CIAT y sus socios*. Simposio Fertilidad de suelo.
- Leigh, J.; Hodge, A. & Fitter, A. H. (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi can transfer substantial amounts of nitrogen to their host plant from organic material. *New Phytologist*. (181), 199-207.
- Medina, M. G.; García, D. E.; Clavero, T. & López, J. G. (2007). Influencia de la distancia entre surcos y altura de corte en algunos indicadores de *Morus alba* (L.) sometida a pastoreo. *Revista Facultad de Agronomía*. 24, 468-480.
- Michelsen, A. & S. Rosendahl. (1990). The effect of VA mycorrhizal fungi, phosphorus and drought stress on the growth of *Acacia nilotica* and *Leucaena leucocephala* seedlings. *PlantSoil*. 124, 7-13.
- Milera, M.; Hernández, D.; Lamela, L.; Senra, A.; López, O. & Martín, G. J. (2010) *Sistemas de producción de leche*. En: M. Milera *Recursos forrajeros herbáceos y arbóreos*. EEPF Indio Hatuey, pp. 254-278.
- Molina L. M.; Mahecha L. & Medina M. (2005). Importancia del manejo de hongos micorrizógenos en el establecimiento de árboles en sistemas silvopastoriles. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 18, 162-175.
- Montgomery, D. (2007) *Dirt: the erosion of civilizations*. University California Press.
- Mujica Pérez, Y. (2012). Inoculación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) por dos vías diferentes en el cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) *Cultivos Tropicales*, 33(4), 71-76.

- Murgueitio E., Flores M., Calle Z., Chará J., Barahona R., Molina C., & Uribe F. (2015). *Productividad en sistemas silvopastoriles intensivos en América Latina*. pp. 59-101 En: *Sistemas Agroforestales. Funciones productivas, socioeconómicas y ambientales*. Serie Técnica Informe Técnico 402, CATIE.
- Evaluación de una asociación de *Cynodon dactylon* L. f. y *Leucaena leucocephala* L. cv. Perú en una lechería durante 23 años. [CD-ROM]. Memorias. VI Taller Internacional Silvopastoril “Los árboles y arbustos en la ganadería tropical”. EEPF Indio Hatuey. Matanzas, Cuba / Recinto de Exposiciones Expo-Holguín, Cuba.
- Oficina Nacional de Normalización. Cuba. (1999a) *NC-ISO 50 Determinación de pH en suelo*.
- Oficina Nacional de Normalización. Cuba. (1999b) *NC-ISO 51 Determinación de materia orgánica en suelo*.
- Oficina Nacional de Normalización. Cuba. (1999c) *NC-ISO 52 Determinación de las formas móviles de potasio y fósforo*.
- Oehl F.; Sieverding E.; Mäder P.; Dubois D.; Ineichen K.; Boller T. & Wiemken A. (2004). Impact of long-term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecological Ecosystems*. 138(4), 574 - 583.
- Ohm S. B. M.; Zaitsoff, P. D.; Öpik, M., & Hart, M. M. (2014) Where the wild things are: looking for uncultured Glomeromycota. *New Phytologist*; 204(1), 171.
- Ojeda L., Herrera, R., Furrázola E., & Hernández C. (2014) Efecto de la inoculación conjunta *Rhizobium-Micoriza Arbuscular* en *Leucaena leucocephala* L. cv. Perú. *Centro Agrícola* 41(3).
- Ojeda L.; Furrázola E. & Hernández C. (2015) Respuesta de *Leucaena leucocephala* L. cv. Perú a la aplicación de diferentes dosis de MicoFert agrícola. *Pastos y Forrajes*, 38(3), 176-182.
- Ojeda L.; González-Cañizares P. J.; Rivera-Espinosa R.; Furrázola, E.; Rosa-Capote, J. de la J.; Hernández M. E. & et al. (2018) Inoculación de *Canavalia ensiformis* con hongos micorrízicos arbusculares en la fase de establecimiento. *Pastos y Forrajes*. 41(3), 189-195.

- Ojeda, L. J., Hernández Vilches, M. E., Sánchez Cordero, L., & Sainz Lombó, R. (2019). Respuesta de *Crotalaria juncea* (L.) a la inoculación con especies de hongos micorrízicos arbusculares en un suelo pardo grisáceo. *Revista Científica Agroecosistemas*, 7(2), 23-30. Internet <https://aes.ucf.edu.cu/index.php/aes>.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2013). An international integrated crop-livestock systems for development, the way forward for production intensification. *Integrated Crop Management* 13, 63.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2015). *Agricultura de Conservación. ¿Qué es la Agricultura de Conservación?* Internet. <http://www.fao.org/ag/ca/es/1a.html>
- Pachas N. A.; Raddrizzani A.; Murgueitiu E.; Uribe F.; Zapata A.; Chara J.; Ruíz T. E.; Escalante E.; Mauricio R. & Ramírez L. (2019) Establecimiento y manejo de leucaena en América Latina. *Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales*, 7(2), 127–132.
- Paneque V. M.; Calaña J. M.; Calderón M.; Borges Y.; Hernández T. & Caruncho M. (2010). *Manual de técnicas analíticas para análisis de suelo, foliar, abonos orgánicos y fertilizantes químicos*. Ediciones INCA.
- Perin L.; L. Martínez-Aguilar R.; Castro-González P.; Estrada-de los Santos T.; Cabellos-Avelar H. V.; Guedes V. M.; Reis, & Caballero-Mellado J. (2006). Diazotrophic Burkholderia species associated with field-grown maize and sugarcane. *Applied Environment Microbiologic*. 72, 3103-3110. Internet <https://doi.org/10.1128/aem.72.5.3103-3110>.
- Pezo D. & Ibrahim M. A. (1996) *Sistemas silvopastoriles: Una opción sostenible para el uso de tierras en sistemas ganaderos*. En *I^{er} Foro Internacional sobre “Pastoreo Intensivo en Tropicales”*. México, FIRA.
- Pozo M.; López J.; Azcón C. & García J. (2015). Phytohormones as integrators of environmental signals in the regulation of mycorrhizal symbioses. *The New Phytologist* 205, 1431-1436.

- Quilambo O. (2003). The vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *African Journal Biotechnology*, 2(12), 539-546. Internet <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/14884>.
- Quirós, O. (2002). *La conservación de suelos en la producción orgánica*. Memoria del II Encuentro de Investigadores en Agricultura Orgánica. Agricultura Conservacionista. Puerto Rico.
- Reda, F; Maximous, S, & El-Kobisy O, (2010). Morphological and anatomical studies on *Leucaena* (*Leucaenaleucocephala*) plants grown under stress of different levels of salinity in irrigation water, » *Bull. Facultad deAgricultura. Cairo Universidad*. 4, 309-330.
- Restrepo K; Montoya M.I; Henao P.; Gutiérrez L & Molina L. (2019) Caracterización de hongos micorrízicos arbusculares de suelos ganaderos del trópico alto y trópico bajo en Antioquia, Colombia. *Idesia*, 37(1), 35-44.
- Richardson A. E.; Lynch J. P.; Ryan P. R.; Delhaize E.; Smith F. A.; Smith S. E.; Harvey P. R.; Rya, M. H.; Veneklaas E. J.; Lambers H.; Oberson A.; Culvenor R. A. & Simpson R. J. (2009). Plant and microbial strategies to improve the phosphorus efficiency of agriculture. *Plant and Soil*. 349, 121-156.
- Rillig, M. C. (2004). Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. *Canadian Journal of Soil Science*, 84 ,355-363.
- Rivera-Espinosa R.; et al (2017). Bases y beneficios del manejo conjunto de *Canavalia ensiformis* e inoculantes micorrízicos arbusculares en los sistemas de suministro de nutrientes de diferentes cultivos. Ediciones INCA.
- Rivera J. E.; Molina I. Chará J.; Murgueitio E. & Barahona R. (2017b) Sistemas silvopastoriles intensivos con *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit: alternativa productiva en el trópico ante el cambio climático. *Pastos y Forrajes*, 40(3), 171-183.
- Rodríguez Y.; Dalpé Y.; Séguin S.; Fernández K.; Fernández F. & Rivera R. (2011). *Glomus cubense* sp. nov. Anarbuscular mycorrhizal fungus from Cuba. *Mycotaxon*. 118 (1), 337-384.

- Ruaysoognern S.; Shelton H. M & Edwards D.G. (1989) The nutrition of *Leucaena leucocephala* de wit cv Cunningham seedlings. External requeriments and critical concentrations in index leaves of nitrogen, phosphorus calcium. *Australian Journal of Agricultural Research* 40, 1241-1251.
- Ruiz-Lozano J. M.; Aroca R.; Zamarreño A. M.; Molina S.; Andreo-Jiménes B.; Porcel R.; García-Mina J. M.; Ryter-Spira C. & López-Ráez J. A. (2016). Arbuscular mycorrhizal symbiosis induces strigolactone biosynthesis under drought and improves drought tolerance in lettuce and tomato. *Plant, Cells & Environment*, 39, 441-452.
- Schüßler A, & Walker C. (2011). *Evolution of the 'Plant-Symbiotic' Fungal Phylum Glomeromycota. Evolution of fungi and fungal-like organisms*. In S. Pöggeler & J. Wöstemeyer *The Mycota XIV*. Berlin: Springer-Verlag, p. 163-85.
- Simó-González J.; Rivera-Espinosa R.; Ruiz- Martínez L. A. & Espinosa-Cuellar E. (2016). Necesidad de reinoculación micorrízica en el trasplante del banano en áreas con precedente de canavalia inoculada con HMA. *Centro Agrónomo*, 43 (2), 28-35.
- Simon L. (2006). Phylogeny of the Glomales: Deciphering the Past to Understand the Present. *New Phytologist*, 133(1), 95-101.
- Smith S. E. & Read, D. J. (2009). *Mycorrhizal Symbiosis*. Academic Press.
- Singhala A.; Kumarb M.; Bhattacharyab N.; Kumaric P.; Kumar J.; Devendra K.; ChauhanaIndu S. & Thakur (2018). Pretreatment of *Leucaena leucocephala* wood by acidified glycerol: optimization, severity index and correlation analysis, *Bioresource Technology*, 265, 214-223.
- Sosa, R. E.; Hagggar, J. & Zapata, B. G. (1999) *Huaxin*. En R. E Sosa; J. Hagggar & B. G. Zapata *Manual agroforestal para la península de Yucatán*.
- Sridevi G, & Thangavel P. (2015) *Environmental sustainability: Sole of green technologies*. Springer.
- Sturz A.V. & Christie B. R. (2003) Beneficial microbial allelopathies in the root zone: The management of soil quality and plant disease with rhizobacteria. *Soil & Tillage Res.* 72,

107-123.

- Turrini A. L.; Avio M.; Giovannetti & Agnolucci M. (2018) Functional complementarity of arbuscular mycorrhizal fungi and associated microbiota: The challenge of translational research. *FrontPlant Science*. 9, 1407. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01407>.
- Uphoff N.; Chi F.; Dazzo F. B. & Rodríguez R. J. (2013) *Soil Fertility as a Contingent Rather than Inherent Characteristic: Considering the Contributions of Crop-Symbiotic Soil Microbiota*. In: R. Lal; B. A. Stewart *Principles of Sustainable Soil Management in Agroecosystems*. CRC Press.
- Usuaga C; Castañeda D & Franco Ana. (2008) Multiplicación de hongos micorriza arbuscular (H.M.A) y efecto de la micorrización en plantas micropropagadas de banano (*Musa AAA cv. Gran enano*) (*Musaceae*). *Revista de Facultad Agronomía*. 61, 4279-4290.
- Valdés L. R. (1992). Banco de proteínas para la ganadería Cubana. *Asociación Cubana de Producción Animal*, 1, 12-18.
- Verbruggen E; Van Der Heijden M. G. A.; Rillig M. C. & Kiers E. T. (2013). Mycorrhizal fungal establishment in agricultural soils: determining inoculation. *New Phytologist*. (4), 1104–9.
- Wencomo H. B. & Ortiz, R. (2011) Capacidad de recuperación de 23 accesiones de *Leucaenas* después de la poda. *Pastos y Forrajes*. 34 (53).
- Yado R.; Salinas J. & Lerma E. (1996) *Manejo de recursos naturales*. Universidad Autónoma de Tamaulipas.
- Zárate S. (1994) Revisión del género *Leucaena* en México. *Anales del Instituto biología, UNAM*. 65(2a), 83-162.
- Zárate S. (1994). Revisión del género *Leucaena* en México. *Anales del Instituto biología, UNAM*. Serie Botánica 65(2b),163-180.