

ACTA BOTANICA CUBANA



No. 111

27 de marzo de 1998



INSTITUTO DE ECOLOGÍA Y SISTEMÁTICA

Valoración biológica del uso del inoculante micorrizógeno VA cubano MicoFert® en viveros de cítricos*

María J. GARCÍA, Enrique POUYÚ, Julia AZCUY, Irma IZQUIERDO, Ainel VALDÉS, Eduardo G. CAÑIZARES y Ricardo A. HERRERA.**

ABSTRACT. MicoFert® is the commercial name used in Cuba, for the VA mycorrhizal inoculant. The application of six VAM fungal strains (Agricultural MicoFert®), on growth of citrus seedlings cultivated in a nursery was evaluated during 19 months. As a rootstock Cleopatra mandarin (*Citrus reshni* Hort. ex Tan) was cultivated on Red Ferralitic soil without organic amendment, pH = 7.1. This trial was developed in the Citrus Enterprise "Ceiba del Agua" from May 1992 to December 1993. Different parameters were estimated after 17 months growth period as follows: height; leaves, stem, roots and rootlets dry weights; and nutrient contents (NPK) in soil. Mycorrhizae were assessed as the colonization percentage and "visual density" of VA endophytes. After 19 months growth, photosynthetic and transpiration rates, in addition to folial conductancy were measured. *Glomus aggregatum*, *G. manihotis*, and *G. spuncum* significantly influenced citrus growth and photosynthesis. The results confirm the advantage of using MicoFert® in citrus nurseries. Seedling survival improvement and saving of three months growth period was shown for citrus nurseries when MicoFert® was used. In addition, the utilization of MicoFert® represent a saving of 140 000 Cuban Pesos per million of inoculated seedlings.

KEY WORDS: vesicular-arbuscular mycorrhizae, biofertilizers, citrus, nursery.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad se acepta que las MVA, son una simbiosis prácticamente universal, no sólo porque la forman la gran mayoría de las especies vegetales, sino por su función en casi todos los ecosistemas y climas. Se encuentran presentes en la casi totalidad de las plantas de importancia industrial y económica tales como algodón, cacao, café, cereales, cítricos, leguminosas, tabaco, ornamentales, frutales y forestales.

Según Reed y Freemont (1935), la presencia de micorrizas vesículo-arbusculares en cítricos fue reportada por primera vez en el año 1933. Con la introducción de la fumigación del suelo, para la producción de cítricos en los Estados Unidos se observó clorosis en las plantas, lo que fue atribuido a la toxicidad del suelo, producto de la fumigación. Posteriormente Kleinschmidt y Gerdemann en 1972 encontraron evidencias que tales síntomas fueron producidos por la eliminación de las micorrizas provocadas por tal práctica.

*Manuscrito aprobado el 15 de enero de 1998.

** Instituto de Ecología y Sistemática. Apartado 8029 La Habana, C.P 10800, Cuba

Experimentos realizados en California por Newcomb (1975) y Ferguson y Menge (1981), en Texas por Timmer y Leyden (1978) y en la Florida por Nemeç y Patterson (1981), comprobaron que los cítricos son altamente dependientes de las asociaciones micorrízicas, presentando buenas respuestas a las inoculaciones. De acuerdo a los resultados experimentales obtenidos por diversos investigadores cubanos, en el estudio y aplicación de hongos MVA, en cítricos, Bouza *et al.* (1986), Cañizares *et al.* (1992), García *et al.* (1993) y Nardo *et al.* (1993), y debido a la importancia que reviste para la agricultura actual la aplicación de biofertilizantes adecuados en cultivos de interés económico, se realizó la presente investigación con los siguientes objetivos:

- Determinar la efectividad de distintos tipos de MicoFert[®] (Agrícola) disponibles en el patrón de cítricos *Citrus reshni* Hort. *ex* Tan. en condiciones de vivero.
- Seleccionar el mejor tipo de MicoFert[®] para recomendar su reproducción masiva y uso en próximas campañas de vivero, en la propagación de este patrón de cítricos.

MATERIALES Y MÉTODOS

La experiencia se desarrolló en un vivero de la Empresa de Cítricos "Ceiba del Agua", ubicada en Caimito, provincia La Habana, en la etapa comprendida de Mayo de 1992 a Diciembre de 1993. El patrón de cítricos empleado fue el mandarino Cleopatra (*Citrus reshni* Hort. *ex* Tan.), de amplio uso comercial, en suelo Ferralítico Rojo sin ningún tipo de enmienda orgánica y sin previa esterilización, en la Tabla 1 se observan las características agroquímicas del suelo. Tanto el tratamiento a las semillas, como el tipo de siembra empleado se efectuó según las normas establecidas para este cultivo (Ministerio de la Agricultura, Instructivo Técnico, 1990).

Tabla 1. Contenido de nutrientes del suelo.

N (%)	P (ppm)	K	Ca	Mg	MO. (%)	pH	
						KCl	H ₂ O
0.616	20.25	0.44	11.82	6.22	1.96	6.5	7.1

El inóculo utilizado, MicoFert[®] Agrícola (MFA), fue reproducido en condiciones de campo por el Instituto de Ecología y Sistemática (IES) en la Empresa de Cultivos Varios "19 de Abril" Güines, provincia La Habana, a partir de inoculante certificado del cepario de la misma institución. La reproducción se realizó con sorgo, *Sorghum bicolor* (L.) Moench, CV V-6 en canteros previamente

esterilizados con bromuro de metilo, se mantuvo con el esterilizante por 48 horas y se dejó airear durante 72 horas. Las cepas de hongos MVA empleadas, se nombran según la nomenclatura establecida por el IES para su reproducción (Tabla 2).

Tabla 2. Nomenclatura de las cepas de hongos MVA procedentes del IES-CITMA, utilizadas para la producción de MicoFert[®] Agrícola (MFA)

Cepa	Nombre Científico y Procedencia de la cepa:
IES 1	<i>Glomus fasciculatum</i> Thaxter Gerdemann & Trappe emend Walker & Koske. Cepa LPA-7 de la Station J'Amelioration des Plantes, INRA, Dijon, Francia.
IES 2	<i>Glomus manihotis</i> Howeler, Sieverding & Schenck. Cepa de la colección de E. Sieverding, CIAT, Colombia.
IES 3	<i>Glomus spurgum</i> Morton. Procedente de Topes de Collantes, La Felicidad, Villa Clara, Cuba. Cepa de la colección IES-CITMA.
IES 4	<i>Glomus aggregatum</i> Schenck & Smith emend Koske. Topes de Collantes, La Felicidad, Villa Clara, Cuba. Colección IES-CITMA.
IES 5	<i>Glomus mosseae</i> (Nicolson & Gerdemann) Gerdemann & Trappe. Topes de Collantes, La Felicidad, Villa Clara, Cuba. Colección IES-CITMA.
IES 9	<i>Glomus intraradices</i> Schenck & Smith. Colección de S. Palacios, UNAM, México.

Los distintos tipos de MicoFert[®] utilizado estaban compuestos por la cepa IES reproducida (conjunto de propágulos compuesto por raicillas, micelio externo y esporas micorrizógenas) en compañía de la microbiota asociada a cada cepa. La dosis de inoculación de cada tipo de MFA en el momento de la siembra fue de 10 g/bolsa, el inóculo se aplicó al horadar el suelo en el centro de la bolsa y colocar las semillas encima del mismo; todos los tipos de MicoFert[®] contaron con cantidades de propágulos superiores a las mínimas recomendadas (Sieverding, 1991). El diseño experimental fue completamente aleatorizado con un total de siete tratamientos, incluido el testigo de producción. Para cada tratamiento se analizaron cinco plántulas (réplicas) de un total de 30 inoculadas, con excepción del testigo que contenía el inóculo nativo. Se realizó la siembra por el método directo, añadiendo en cada bolsa de 5 a 6 semillas certificadas con una viabilidad del 98%. La emergencia se produjo en todos los tratamientos entre los 25 y 30 días de realizada la siembra, se efectuó el raleo y se seleccionó una planta por bolsa. Solamente se realizó una fertilización con urea, a razón de 10 g/bolsa.

bolsa aproximadamente a los seis meses del crecimiento de las plantas antes de la injertación la cual se realizó a los 7 meses. Se mantuvieron adecuadamente todas las atenciones agrotécnicas necesarias para este cultivo (Ministerio de la Agricultura, Instructivo Técnico, 1990) y no se requirió de la aplicación de fungicidas ni plaguicidas.

A los 17 meses de comenzado el experimento se procedió a evaluar los diferentes indicadores. Se evaluó la altura total, diámetro del tallo y número de hojas. Para cuantificar el peso seco se procedió a secar a 70°C, hasta peso seco constante; fueron medidos los pesos secos para follaje (PSF), raíz total (PSR) y raicillas (PSr). Las tasas de colonización micorrizica, fueron cuantificadas como densidad visual de la infección (DV), Herrera *et al.* (1984) y porcentajes de infección MVA, Giovannetti y Mosse (1980), a partir de las raicillas teñidas por la técnica de Phillips y Hayman (1970).

Los métodos de análisis químicos empleados fueron los siguientes: pH por dilución suelo - solución H₂O y KCl 1:2,5; materia orgánica por Springer Klee (Thum *et al.*, 1956), nitrógeno total por Kjeldhal, fósforo asimilable por el procedimiento de Bray-Kurtz (Jackson, 1958), los cationes cambiables (K, Ca, Mg) fueron extraídos por lixiviación con acetato amónico 1N y determinado por fotometría de llama y complejometría, respectivamente.

Se realizó a los 19 meses de iniciado el experimento, una medición de fotosíntesis neta, conductancia foliar y tasa de transpiración mediante el empleo de un equipo portátil de intercambio gaseoso (LCA-2 The Analytical Development Co. Ltd Hoddesdon Merts. England). Las mediciones fueron realizadas con una cámara de luz de 480 μ mol/m² de radiación fotosintéticamente activa (PAR). En cada tratamiento se tomaron tres plantas al azar y se midieron tres hojas por planta.

Todos los datos obtenidos se analizaron mediante un análisis de varianza de clasificación doble y las diferencias entre tratamientos se determinaron mediante la prueba de Rangos Múltiples de Duncan (P=0.05):

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 3, a los 17 meses de iniciado el experimento se presentan las mediciones realizadas de la altura y el diámetro del tallo de las plantas, las cuales arrojaron que en el índice de la altura de los tratamientos inoculados con los tipos de MFA, IES-2, 4 y 3, obtuvieron los mayores valores, los que difieren significativamente del testigo de producción (NAT), el resto mantienen valores intermedios con excepción de IES-5, que se comportó similar al testigo. En cuanto al diámetro se presentan resultados similares con los mismos tipos, aunque varía el orden de valoración siendo IES-4, 2 y 3 los mejores tratamientos en relación al testigo.

Tabla 3. Influencia de seis tipos de MFA en plantas de mandarina Cleopatra a los 17 meses de vivero, Diámetro Tallo (Diam Tallo), Biomasa aérea (Biom aérea), Peso Seco de Follaje (PSF), Peso Seco Raíz (PSR), Porcentaje de Colonización Micorrizica (%INF) y Porcentaje de Densidad Visual (%DV).

Tipos MFA	Altura (cm)	Diam Tallo	# Hojas	Biom aérea	PSF (g)	PSR (g)	%INF	%DV
IES 1	113.6b	1.7bc	193.8cd	139.6bc	55.26b	61.0abc	60.4ab	20.7ab
IES 2	154.0a	2.0ab	636.0a	355.8a	135.01a	80.8ab	49.0b	13.5c
IES 3	143.6a	2.0ab	400.8b	308.4a	131.9a	62.4abc	62.2a	23.5a
IES 4	149.4a	2.29a	371.8b	375.1a	141.9a	88.5a	56.4ab	14.9c
IES 5	100.6bc	1.6c	302.8bc	148.6bc	59.78b	44.5c	53.6ab	16.3bc
IES 9	113.8b	1.8bc	271.8c	173.7b	53.01b	51.12bc	58.6ab	18.6abc
NAT	90.2c	1.3d	105.4d	82.45c	39.93b	60.5abc	48.2b	14.7c

Medias con letras comunes no difieren a $P=0,05$.

En la Tabla 3 se observan también los resultados del peso seco del follaje (PSF) de los tratamientos seleccionados para su evaluación a los 17 meses. Sobresalieron por su comportamiento IES-4, 2 y 3, los que además resultaron altamente significativas en comparación al resto. Las plantas micorrizadas no sólo poseen una mayor biomasa que los controles correspondientes, sino además es característico que la micorrización altere la distribución de la misma (Smith, 1980). En numerosos trabajos experimentales se ha puesto de manifiesto que como consecuencia de la formación de micorrizas VA tiene lugar normalmente una considerable estimulación del ritmo de crecimiento de la planta (Hardie y Leyton, 1981) y finalmente un incremento en la producción de biomasa cuyo efecto es mayor en suelos de baja fertilidad o desequilibrados nutricionalmente, especialmente cuando el contenido en fósforo asimilable es bajo (Abbot y Robson, 1984). En cuanto, al comportamiento de los diferentes tratamientos (Tabla 3) el porcentaje de colonización micorrizica fue bastante parejo en todos, exceptuando IES-2 y la micorriza nativa (NAT) donde se obtuvieron los valores más bajos (48,9 y 48,2%) aunque difieren estadísticamente de IES-3 que fue la de mejor resultado en este indicador (78,2%). Refiriéndonos al porcentaje de densidad visual del endófito (Tabla 3).

los tratamientos muestran tendencias diferentes: los tipos de MFA IES-1 y 3 presentan para este índice los valores más altos; así como los tipos de MFA IES-4, 5 y 9 presentan valores medios que difieren significativamente del IES-3 pero no del resto de los tipos de MFA incluyendo el testigo de producción, el IES-2 y el testigo de producción se comportaron de manera similar reflejando los valores más bajos. Cuando comparamos estos resultados con los obtenidos en los rendimientos de biomasa aérea (Tabla 3) se observa que el IES-2 a pesar de su bajo índice de densidad visual, influyó determinadamente en la producción de materia seca en las plantas de cítricos con excepción del testigo y aparecen junto a IES-3 y 4 con los valores más altos en cuanto a este indicador, las cuales se diferencian estadísticamente del resto de los tratamientos. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Edriss *et al.* (1984), Gianinazzi y Gianinazzi-Pearson (1986), en el primer caso los autores obtuvieron en igual patrón de cítricos (mandarino Cleopatra) con diferentes cepas de MVA, mayor peso seco total cuando se registraron menores porcentajes de colonización para el caso de la cepa de *G. fasciculatum*. Un comportamiento similar se reflejan en nuestros resultados con IES-2 y 4. Al parecer las menores tasas de colonización tienen un efecto marcado en los índices de crecimiento de las plantas lo cual refleja probablemente su notable eficiencia en la absorción de nutrientes.

Tabla 4. Valores de fotosíntesis neta (Fn), conductancia foliar (Gs) y tasa de transpiración (E) en plantas de mandarino Cleopatra a los 19 meses de vivero.

Tratamientos	Fn $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$	Gs $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$	E $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$
IES 1	6.12 bc	88.44 bc	2.65bc
IES 2	7.24 ab	111.78 ab	3.17 b
IES 3	6.31 bc	95.67 bc	3.32 b
IES 4	8.14 a	140.89 a	4.11 a
IES 5	4.88 c	101.33 bc	3.34bc
IES 9	5.03 c	80.78 c	2.72bc
NAT	6.39 bc	99.33 bc	3.12 b

En la Tabla 4, se observan los resultados preliminares de una medición realizada a los tratamientos evaluados, en cuanto a fotosíntesis neta, conductancia foliar y tasa de transpiración donde los mejores tratamientos corresponden a los tipos de MFA IES-4, 2, 3 y 5. Aunque no se observan diferencias significativas con el testigo de producción, sí se aprecia una tendencia en estas evaluaciones a que IES-4 presente los mayores valores obtenidos en fotosíntesis neta, conductancia foliar y tasa de transpiración, lo que coincide con los valores más altos de producción de biomasa aérea y difiere significativamente del testigo de producción en todos estos indicadores. Si la tasa fotosintética es mayor en plantas micorrizadas, esto pudiera deberse a la mejora en la nutrición fosforada, ya que se sabe que la disponibilidad de fosfato inorgánico puede limitar la tasa fotosintética. El fósforo está implicado directamente en la regulación de la fotosíntesis, así como en la subsiguiente utilización o almacenamiento de los fotosintatos (Harris *et al.* 1985). Concretamente se ha puesto de manifiesto una mayor eficiencia en la utilización de fósforo en el proceso fotosintético en plantas micorrizadas (Brown *et al.* 1988) y esto podría ser debido a que, como consecuencia de la colonización VA, se induce en la planta la formación de compuestos que influyen en la estructura y/o función de los cloroplastos, entre los cuales podrían estar implicadas las fitohormonas (Gianinazzi-Pearson y Azcón Aguilar, 1991). Estos resultados confirman la eficiencia de las cepas ensayadas en la etapa de vivero en el patrón mandarino Cleopatra, lo que correspondió con un acortamiento del momento de injerto para este patrón. Lin *et al.* (1987 a,b), Cueto *et al.* (1993) y García *et al.* (1992) encontraron que también se puede acortar el momento de trasplante y/o injerto en patrones micorrizados de manzana, rosas, café, cítricos, papaya y maracuyá. Las plantas inoculadas pueden ser de mayor calidad, por presentar un desarrollo y vigor muy aceptable si se tiene en cuenta que la fertilización fosfórica y potásica del vivero no fue necesaria.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados mostrados en el presente trabajo se puede concluir:

- Que todos los tipos de MicoFert[®] Agrícola aplicados en esta experiencia produjeron un efecto beneficioso en el crecimiento, desarrollo y vigor de las plantas de mandarino Cleopatra, en el tipo de suelo empleado.
- Los tipos de MFA que más influyeron en los indicadores de crecimiento, peso seco de biomasa aérea, peso seco de raíces y tasa fotosintética fueron *Glomus manihotis*, *G. aggregatum* y *G. spurgum*.
- Se logró reducir la estancia en el vivero, que puede llegar a ser de 15-17 meses, contra 24 meses que demora normalmente.
- Se logró disminuir la fertilización nitrogenada a la dosis mínima establecida y se elimina totalmente la fertilización fosfórica y potásica.

REFERENCIAS

- Abbot, L.M. y A.D. Robson 1984. The effect of mycorrhizas on plant growth. In: *VA Mycorrhiza*. 2nd. ed. Powell, C. El. y Bagyaraj D.J. (eds.) CRC Press, Boca Raton, Florida. pp.113- 130.
- Bouza, N., R.A. Herrera, R.L. Ferrer y J. Prieto. 1986. Perspectivas para la utilización de las micorrizas vesículo-arbusculares en el cultivo de cítricos en Cuba. En: Ciclo Lectivo sobre el tema Técnicas de Investigación en Micorrizas. CATIE: Turrialba, Costa Rica, 18-28 sept. de 1985, Informe Provisional No. 18, pp.209-234.
- Brown, M. S., S. Thamsurakul, y G. H. Bethlenfalvay. 1988. The *Glycine-Glomus-Bradyrhizobium* symbiosis. VIII Phosphorus use efficiency of CO₂ and N₂ fixation in mycorrhizal soybean. *Physiol. Plant.* 74:159-163.
- Cañizares, E.G., M.J. García, J. Azcuy, A. Nardo, J.Sosa, R.A. Herrera 1992. Efecto de la inoculación de hongos micorrizógenos vesículo-arbusculares (MVA) y otros biofertilizantes sobre el crecimiento de plántulas de cítricos (*Citrus volkameriana*). En: *I Taller Internacional sobre Biofertilización en los Trópicos*. INCA. La Habana. Resúmenes, pp 35 - 55.
- Cueto, J.R., S. Muñoz, B. Pedrera, C. Parra, M.J. García, J. Azcuy, E. Furrázola, R.A. Herrera 1993. Influencia de las micorrizas en el desarrollo de posturas de papaya (*Carica papaya*, L.) en la etapa del vivero. Evaluación de 15 cepas en suelo Ferralítico Rojo. En: *II Taller sobre Biofertilización en los Trópicos*. La Habana, Resúmenes, pp 203 - 244.
- Edriss, M. H., R. M. Davis and D. W. Borger 1984. Increases growth responses at Citrus by several species of Mycorrhizal Fungi. *Hort. Science* 19(4): 537-539.
- Ferguson, J. J. and J. A. Menge. 1981. Inoculum production and field application of endomycorrhizal fungi. *Phytopathology*, St. Paul. 71: 873 (Abs).
- García, M. J., J. Azcuy, J. R. Cueto, E. Furrázola, E. Pouyú, E.G. Cañizares, R.L. Ferrer y R.A. Herrera. 1992. Influencia de diferentes hongos micorrizógenos vesículos -arbusculares sobre el crecimiento de plántulas de maracuyá (*Passiflora edulis* Tims. var. *flavicarpa*). En: *I Taller Internacional sobre Biofertilización en los Trópicos*. INCA. La Habana. Resúmenes, pp. 35 - 55.
- García, M. J., E. G. Cañizares y J. Azcuy. 1993. Evaluación de la inoculación conjunta (MVA - FOSF) en plántulas de mandarina, Cleopatra. En: *II Taller sobre Biofertilización de los Trópicos*, La Habana, Resúmenes, pp.203 -244.
- Gianinazzi, S. and Gianinazzi - Pearson. V. 1986. Progress and Headaches in Endomycorrhiza Biotechnology. *Symbiosis*, 2:139 -149.
- Gianinazzi - Pearson, V. y C. Azcón Aguilar. 1991. Fisiología de las micorrizas vesículo -arbusculares. En: *Fijación y movilización biológica de nutrientes* Eds. J. Olivares y J. M. Barea. CSIC, Madrid. 2:175-202.
- Giovannetti. M. and B. Mosse, 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular -arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.* 84: 489 - 500.

- Hardie, K. and L. Leyton. 1981. The influence of vesicular - arbuscular mycorrhiza on growth and water relation of red clover. I. In phosphate deficient soil, *New Phytol.* 89:599 - 608.
- Harris, D., R. S. Pacovsky and E. A. Paul. 1985. Carbon economy of soybean - Rhizobium - Glomus associations. *New Phytol.* 101: 427 - 440.
- Herrera, R. A., R. L. Ferrer y Z. Prikil. 1984. Determinación colorimétrica de la densidad de la infección de micorrizas VA por extracción de azul de Tripán. I. Descripción del método. *Acta Botánica Cubana* (20): 143 - 158.
- Jackson, M. 1958. *Soil chemistry*. Prentice hall Inc. Englewood Cliffs. New York. p 662.
- Kleinschmidt, G. D. and J. W. Gerdemann. 1972. Stunting of citrus seedlings in fumigated nursery soil related to the absence of endomycorrhizae. *Phytopath.* 62:1447-1453.
- Lin, M.T.; M.A. Mattos; J.A. Taveira; F.B. Lucena y C.O. de Lima. 1987 a. Large scale greenhouse production and field evaluation of mycorrhizal citrus. En: *Mycorrhizae in the Next Decade. Proceedings of the 7th. North American Conference on Mycorrhizae*. Eds. Sylvia D.M.: L.L. Huang and J.H. Graham Gainesville, University of Florida. p 296.
- Lin, M.T., F.B. Lucena, M.A. Mattos, M. Paiva, M. Assis y L.S. Caldas 1987 b. Greenhouse production of mycorrhizal plants of nine transplanted crops. En: *Mycorrhizae in the Next Decade. Proceedings of the 7th. North American Conference on Mycorrhizae*. Eds. Sylvia D.M.; L.L. Huang and J.H. Graham Gainesville, University of Florida, p 296.
- Ministerio de la Agricultura, Union de Empresas de Cítricos. 1990. Instructivo Técnico para el Cultivo y Beneficio de los Cítricos. *CIDA*, La Habana. Vol. I., p 118.
- Nardo, A., E.G. Cañizares, M.J. García, J. Azcuy, F. Fernández, B. de la Noval, J.M. Calaña y M. Guerra 1993. Evaluación de la influencia de tres tipos de biofertilizantes en el crecimiento y desarrollo de posturas de mandarina Cleopatra en la fase de vivero. En: *II Taller sobre Biofertilización en los Trópicos*. La Habana, *Resúmenes*, pp 203- 244
- Nemec, S. and M. Patterson. 1981. Comparison of techniques to inoculate citrus with mycorrhizal fungi in the field in Florida. *Fifth N. Am. Conf. on Mycorrhizae*. Québec. Canadá. p 24 (Abs).
- Newcomb, D.A. 1975. Mycorrhiza effect following soil fumigation. *Inst. Plant. Propagat. Soc.* 25:102-104.
- Phillips, J.M. and D.S. Hayman. 1970. Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesiculo-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assesment of infection. *Trans. British Mycol. Soc.* 55:158-161.
- Reed, H.S. and T. Fremont. 1935. Factors that influence the formation and development of mycorrhizal association in citrus roots. *Phytopathol.* 25:645-647.
- Sieverding, E. 1991. Vesicular-arbuscular management in tropical agrosystems. *Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ)*, Rossdorf, Germany, 367p.
- Smith, S.E. 1980. Mycorrhizas of autotrophic higher plants. *Biol. Rev.* 55:475-510.
- Thum, R.; R. Hermann y E. Knickmann. 1955. Die untersuchunguan boden (Methoden buch). *Neumann Verlag Radebeul*. Berlin. Vol. 1. p 271.

- Timmer, L. W. and R. F. Leyden, 1978. Stunting of citrus seedling in fumigated soils in Texas and its correction by phosphorus fertilization and inoculation with mycorrhizal fungi. *J. Am. Hort. Sci.* New York, 103:533-537.
- Torres, N. R. 1988. Efecto de la inoculación con micorrizas VA en plántulas de cítricos, guanábano y guayabó. En *I Reunión de la Sociedad Latinoamericana de Micorrizólogos* La Habana 14-17 de junio 1988. *Resúmenes*.