



VIABILIDAD DE ESPORAS Y FUNCIONAMIENTO DE UN INOCULANTE LÍQUIDO A BASE DE *Glomus cubense* EN *Sorghum bicolor* L. cv. Moench

Spore viability and liquid inoculant performance based on *Glomus cubense* in *Sorghum bicolor* L. cv. Moench

Aracely Mena Echevarría[✉], Yonaisy Mujica Pérez, Kalyanne Fernández Suárez y José Dell` Amico Rodríguez

ABSTRACT. This study aimed to evaluate arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus cubense*) functional viability and colonization ability in liquid medium. Two experiments were conducted, one studied spores fungal viability in liquid medium and sterile water was used in control around six months. Average 100 spores were used. In second text, we studied spores ability colonizing stored by six months in sorghum (*Sorghum vulgare* Perz.) plants. Mycorrhizal performance indicators were determined (colonization frequency and intensity and protein total) and plants growth and development indicators (dry mass root of air). Data were analyzed using Statgraphics Centurion for Windows and used the Duncan test with a significance of 5% in the cases where the ANOVA was significant. Results showed *Glomus cubense* spores viability after six months, with marked loss of viability in the variant preserved in sterile distilled water. Colonization studies demonstrated spores functional stability on sorghum plants, due to were achieved superior colonization levels in plants inoculated with respect to non-inoculated. Results demonstrated viability and functional stability of liquid inoculant retained up to six months.

RESUMEN. El trabajo tuvo como objetivo evaluar la viabilidad funcional y capacidad de colonización del hongo micorrízico arbuscular *Glomus cubense*, en medio líquido. Se realizaron dos experimentos, en uno se estudió la viabilidad fúngica de las esporas en un medio líquido y como control agua destilada estéril durante seis meses. Se utilizaron 100 esporas como promedio. En el segundo se estudió la capacidad de colonización de las esporas almacenadas durante seis meses inoculadas en plantas de sorgo (*Sorghum vulgare* Perz.). Se determinaron indicadores de funcionamiento micorrízico (frecuencia e intensidad de la colonización, contenido de proteínas fácilmente extraíbles, producidas por los HMA) e indicadores de crecimiento y desarrollo de las plantas (masa seca de raíz y aérea). Los datos fueron analizados mediante el programa STATGRAPHICS Centurion para *Windows* y se utilizó la prueba de Duncan con una significación de un 5 % en los casos en que el ANOVA resultó significativo. Los resultados demostraron la viabilidad de las esporas de *Glomus cubense* durante seis meses, con marcadas pérdidas de viabilidad en la variante conservada en agua destilada estéril. Los estudios de colonización en plantas de sorgo demostraron la estabilidad funcional de las esporas, debido a que se alcanzaron niveles de colonización superiores en las plantas inoculadas en relación con las no inoculadas. Estos resultados demuestran la viabilidad y estabilidad funcional del inoculante líquido hasta seis meses de conservado.

Key words: spores, conservation, stability, grasses

Palabras clave: esporas, conservación, estabilidad, gramíneas

INTRODUCCIÓN

En el contexto agrícola mundial están bien argumentados los múltiples y extraordinarios beneficios que la simbiosis micorrízica confiere a las plantas.

Los hongos micorrízicos del tipo arbuscular (HMA) constituyen los más comunes y ampliamente distribuidos en los ecosistemas terrestres (1). Estas evidencias, unidas a la antigüedad de los HMA, sugieren la importante contribución de estos a la exitosa colonización de la tierra por las plantas y el papel crucial que han desempeñado en su evolución y diversificación (2).

Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), gaveta postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba, CP 32 700.

✉ amena@inca.edu.cu

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) se consideran biótrofos obligados porque dependen de la planta huésped para completar su ciclo de vida y uno de los principales factores que explica esta condición es el metabolismo o la absorción de carbono en el estadio presimbótico, debido al hecho de que las hifas extrarradicales de estos hongos son incapaces de absorber carbohidratos (3). Dentro de las principales funciones que realizan estos hongos en la interfase suelo-planta se destaca su papel en la absorción de nutrientes, específicamente fósforo y otros macro y micronutrientes (4), debido al aumento del volumen de suelo a explorar (5); su rol en el restablecimiento de la diversidad de las comunidades biológicas contribuyendo a la sostenibilidad de los agro y ecosistemas (1, 6); su efecto positivo ante estreses bióticos (patógenos) y abióticos (salinidad y sequía) debido a que actúan en varios procesos fisiológicos de las plantas (7, 8) y la tolerancia de las mismas a los metales pesados (9).

Atendiendo a los criterios anteriormente expuestos, en Cuba desde la década de los 90, el Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) inició un amplio programa de investigaciones básicas con estos simbioses y como resultado se obtuvo un biofertilizante de formulación sólida registrado como EcoMic®, con alto grado de pureza y estabilidad biológica, con el cual se ejecutaron estudios que mostraron resultados satisfactorios en cultivos como la soya (10), en el desarrollo de portainjertos en viveros de aguacate (11) y en yuca (12).

Teniendo en cuenta la efectividad mostrada por este inoculante sólido, a partir del año 2000 se iniciaron nuevos estudios, pero esta vez con el propósito de formular un nuevo producto a partir de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en soporte líquido, con la finalidad de diversificar las vías de inoculación de estos simbioses, garantizando futuras aplicaciones por la vía del fertirriego. Recientemente se han encontrado resultados promisorios con la utilización de los HMA en formulación líquida en cereales como el arroz bajo condiciones de estrés salino (13).

Un elemento crucial que limita el uso de inoculantes microbianos es la estabilidad funcional del producto una vez que se formula, por lo tanto, el objetivo fundamental de este estudio fue evaluar la viabilidad de las esporas de *Glomus cubense*, conservadas durante seis meses en medio líquido y su funcionamiento como inoculante en plantas de *Sorghum bicolor* L. Moench.

MATERIALES Y MÉTODOS

EXPERIMENTO 1

Obtención del material fúngico para el inoculante líquido

Para la realización de esta investigación se utilizó la cepa INCAM-4 de *Glomus cubense* (14), procedente de la colección de cepas del Instituto

Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA) de Cuba. El inóculo certificado de *Glomus cubense* (100 g), que contiene una mezcla de arcilla caolinítica y propágulos fúngicos (esporas, hifas, micelio), se usó para la siembra de plantas de sorgo en potes de cultivo de seis litros con un sustrato mineral estéril. A los 90 días de crecimiento, se eliminó la parte aérea de las plantas, y el sustrato con las raíces micorrizadas se utilizó como fuente de esporas. El material fue homogenizado manualmente, secado a temperatura ambiente y almacenado durante 15 semanas a 4 °C.

Para el aislamiento de las esporas se tomaron 50 g del material homogenizado y se realizó un tamizado húmedo (15), de una pasta obtenida por mezcla del sólido con agua, entre dos tamices (40 y 400 µm de luz) con la adición de agua para facilitar el proceso. El residuo remanente se recogió en el tamiz de 40 µm, con una espátula se pasó a un tubo de centrifuga en el cual se mezcló con solución de sacarosa (720 g de sacarosa y 20 g de Tween 80 L⁻¹) y se centrifugó a 2000 rpm durante cinco minutos. Posteriormente se decantó la fracción líquida con los propágulos fúngicos los que fueron depositados en tubos eppendorf de 1,5 mL, con 300 µL de solución Ringer para conservarlos hasta el momento de la desinfección. Un litro de la solución Ringer contenía NaCl 7,5 g, KCl 0,75 g, CaCl₂ 0,1 g y NaHCO₃ 0,1 g.

Estabilidad del inoculante líquido

Con el objetivo de evaluar la viabilidad del germoplasma fúngico contenido en la solución osmoprotectora, se realizó un experimento de almacenamiento colocando 400 esporas viables en 300 mL de solución en frascos de color ámbar y conservados en refrigeración. Este ensayo se extendió por seis meses, se realizaron cinco observaciones por cada tratamiento y dos repeticiones en el tiempo. Los tratamientos estudiados siguieron un diseño completamente aleatorizado y como control se utilizó la misma cantidad de propágulos pero conservados en agua destilada estéril.

Determinaciones realizadas

Con carácter mensual durante los seis meses se evaluaron indicadores morfológicos de las esporas de HMA como coloración y forma de las esporas con la ayuda del microscopio óptico. También se cuantificó la producción de nuevas esporas, utilizando el estereomicroscopio (MEIJI TECHNO) y se determinó el incremento porcentual del contenido de proteínas totales fácilmente extraíbles producidas en el medio líquido (16).

EXPERIMENTO 2

Para comprobar la efectividad de este inoculante tras seis meses de conservación, se prosiguió con un ensayo de inoculación en áreas del invernadero del departamento de Biofertilizantes y Nutrición de las Plantas del INCA. Se utilizó sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) como cultivo modelo y las semillas se desinfectaron

con una solución de hipoclorito de sodio al 10 % durante 10 minutos^A. Pasado este tiempo se decantó la solución, se lavaron tres veces con agua destilada y se colocaron dos semillas por maceta.

Se utilizaron macetas plásticas de 1 kg de capacidad y como sustrato un suelo Hidromórfico Gley Vértico Carbonatado (17), cuyas características se muestran en la Tabla I. La esterilización se efectuó en autoclave a 121 °C durante dos horas, en ciclos de tres días seguidos.

Descripción del inoculante micorrízico, diseño experimental y descripción de los tratamientos

Las plantas crecieron a una temperatura promedio de 25±3 °C, humedad relativa de 75-80 % y fotoperiodo natural. El experimento se extendió por 60 días y se desarrolló dos veces durante el año 2013 (abril y junio).

El inoculante líquido se formuló teniendo en cuenta los procedimientos descritos anteriormente y se inoculó 1 mL (40 esporas promedio) por cada maceta en el momento se la siembra. Se empleó una variante con inóculo sólido certificado a razón de dos gramos por maceta con igual contenido de esporas como promedio y como control un tratamiento sin inocular. Se aplicó riego manual en función de las necesidades de las plantas. Se siguió un diseño completamente aleatorizado con ocho tratamientos que se describen en la Tabla II. Se utilizaron 10 macetas por cada tratamiento.

Determinaciones y Análisis Estadístico

Los muestreos se realizaron a los 30 y 60 días después la de germinación (ddg) de las semillas, se tomaron cinco macetas por cada tratamiento. Se realizaron las siguientes evaluaciones:

- ♦ **Indicadores de funcionamiento micorrízico:** para la estimación de los indicadores fúngicos las raicillas fueron secadas a 70 °C y teñidas (18). Se determinó la frecuencia e intensidad de la colonización micorrízica por el método de los interceptos^C.

^A Ortega, E. y Rodés, R. *Manual de prácticas de laboratorio de fisiología vegetal*, Pueblo y Educación, Ciudad de la Habana, 1986, p. 196.

^B Herrera, R. A.; Ferrer, R. L.; Furrázola, E. y Orozco, M. O. *Estrategia de funcionamiento de las micorrizas VA en un bosque tropical. Biodiversidad en Iberoamérica. Ecosistemas, Evolución y Procesos sociales*, (ed. Monasterio, M.), edit. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo, 1995.

^C Trouvelot, A.; Kough, J. L. y Gianinazzi-Pearson, V. "Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle", eds. Gianinazzi, S. y Gianinazzi-Pearson, V., *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*, edit. INRA Press, Paris, 1986, 217-221 pp.

Tabla I. Principales características químicas del suelo utilizado en el experimento.

pH	MO (%)	P (mg kg ⁻¹)	Ca	Mg (cmol kg ⁻¹)	K	Na	Espora HMA/50 g suelo
7,5	1,04	17	12,5	3,7	0,48	0,10	21

Determinaciones químicas: pH H₂O, potenciómetro; materia orgánica (MO), Walkley Black; fósforo (P), Oniani; cationes, Ca, Mg, Na y K, método de Maslova; esporas de HMA (15) con modificaciones^B.

- ♦ **Indicadores del crecimiento de las plantas:** se determinó la masa seca de la raíz y aérea de la planta colocando las muestras en la estufa a 70 °C hasta obtener peso constante.

Todos los caracteres cumplían los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza, por lo cual se procedió a efectuar un análisis de varianza con arreglo bifactorial en el experimento uno y ANOVA de clasificación simple en el experimento dos. Los datos fueron analizados mediante el software STATGRAPHICS Centurion para Windows. Para la discriminación de medias se utilizó el procedimiento de Duncan con una significación de un 5 % en los casos en que el ANOVA resultó significativo.

Tabla II. Descripción de los tratamientos empleados en el experimento.

Tratamientos	Tiempo de conservación (meses)
T1	Inóculo líquido 1
T2	Inóculo líquido 2
T3	Inóculo líquido 3
T4	Inóculo líquido 4
T5	Inóculo líquido 5
T6	Inóculo líquido 6
T7	Inóculo sólido certificado
T8	Control sin inocular

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos que se muestran se corresponden con las medias de una repetición ya que el comportamiento fue similar en la segunda.

EXPERIMENTO 1

La observación al microscopio óptico de los propágulos de la especie *Glomus cubense* conservados en refrigeración durante seis meses revelaron que las esporas mantuvieron su coloración de hialina a amarilla, con una tendencia muy pálida. En cuanto a las formas de las esporas se pudo observar diversidad: ovoide, elipsoide, piriforme a irregular, raramente globosa. Se observó que las paredes de las esporas estuvieron conformadas por dos capas y no se observó eclosión de las mismas.

En la Tabla III se muestra el número de esporas viables en medio líquido y agua destilada estéril durante los seis meses del ensayo. El análisis bifactorial arrojó que el número de esporas viables de *Glomus cubense* dependió de la interacción entre el tipo de solución utilizada y el tiempo de conservación.

Tabla III. Número de esporas viables de *Glomus cubense* en medio líquido (ML) y en agua durante seis meses.

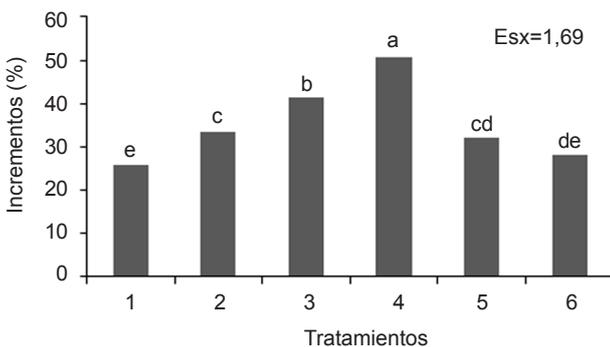
Tratamientos	Tiempo de conservación de las esporas (meses)					
	1	2	3	4	5	6
<i>Glomus cubense</i> (ML)	398,8 a	398,8 a	398,8 a	398,8 a	398,2 a	398,4 a
<i>Glomus cubense</i> (agua)	245,8 b	230,8 b	225,2 b	220,2 b	212,4 b	203,6 b
Esx	1,11					

Se encontró que en el medio líquido el contenido de esporas se mantuvo estable durante el período de estudio, mientras que el valor de las esporas conservadas en agua destilada estéril se redujo prácticamente a la mitad desde el primer mes de la evaluación, tendencia que fue en descenso en la medida que transcurrió el tiempo del estudio.

Este comportamiento encontrado en las esporas conservadas en agua destilada estéril pudo estar relacionado con la diferencia de presión osmótica entre el interior de la espora y el exterior rodeado por agua.

En la Figura 1 se describen los incrementos porcentuales del contenido de proteínas fácilmente extraíbles producidas en medio líquido encontrándose una tendencia al incremento, con porcentajes superiores a los cuatro meses de conservadas las esporas (50 %) y un descenso marcado a partir de los cinco meses.

No se debe obviar que la desinfección realizada a las esporas utilizadas en este experimento eliminó parte de la microbiota asociada a la pared exterior de las mismas y algunos estudios confirman que la presencia de microorganismos en las paredes de las esporas estimulan la germinación, el desarrollo del tubo germinativo y la ramificación hifal, procesos propios del metabolismo del hongo y que estimulan, en su conjunto, la liberación de sustancias al medio que las rodea (19).



1: inóculo líquido (un mes); 2: inóculo líquido (dos meses)
3: inóculo líquido (tres meses); 4: inóculo líquido (cuatro meses)
5: inóculo líquido (cinco meses); 6: inóculo líquido (seis meses)

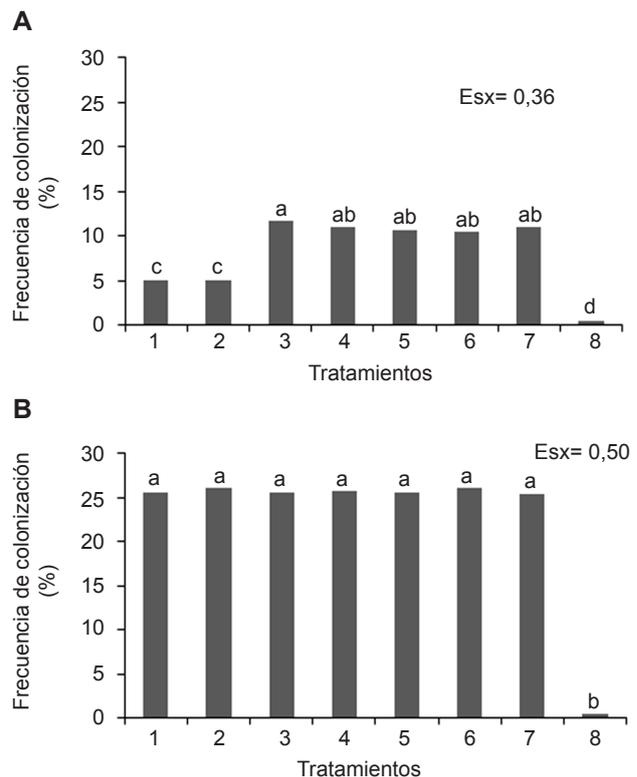
Figura 1. Incremento porcentual del contenido de proteínas fácilmente extraíbles en el medio líquido.

En este estudio se demostró la habilidad de la esporas de *Glomus cubense* para mantenerse viables pasados seis meses de conservación en medio líquido, situación que pudiera estar relacionada con la estimulación de mecanismos de germinación a partir de la creación de una condición de estrés durante un tiempo de almacenamiento.

EXPERIMENTO 2

Influencia de la inoculación de *Glomus cubense* en indicadores del funcionamiento micorrízico

En la Figura 2 se describe el comportamiento de la frecuencia de colonización micorrízica alcanzada por las plantas de sorgo en los dos muestreos realizados.



A: 30 ddg B: 60 ddg

1: inóculo líquido (un mes); 2: inóculo líquido (dos meses)
3: inóculo líquido (tres meses); 4: inóculo líquido (cuatro meses)
5: inóculo líquido (cinco meses); 6: inóculo líquido (seis meses)
7: inóculo sólido y 8: control sin inocular

Figura 2. Influencia de la inoculación sobre la frecuencia de colonización micorrízica.

Se observó, en el primer muestreo, diferencias entre los tratamientos estudiados en relación con el control no inoculado. Los tratamientos inoculados con esporas conservadas por tres, cuatro, cinco y seis meses alcanzaron los mayores valores (11 %) y a su vez no difirieron del tratamiento con inóculo sólido. Por otra parte, se encontró que los tratamientos inoculados con esporas conservadas por uno y dos meses mostraron los valores más bajos.

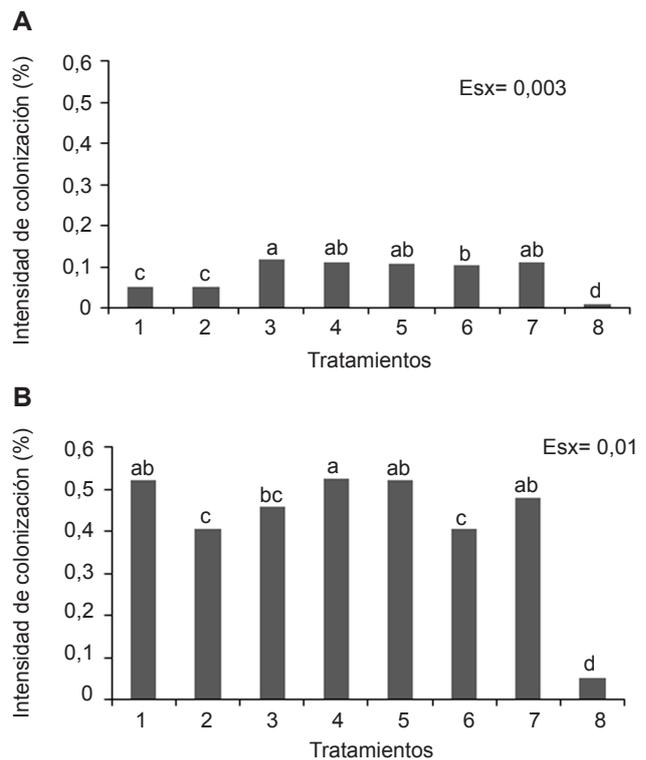
En el segundo muestreo se pudo apreciar diferencias en relación con el control no inoculado. Los valores máximos alcanzados en los tratamientos inoculados (25 %) fueron inferiores si se comparan con los reportados en plantas de arroz bajo condiciones de estrés salino, donde se informaron cifras cercanas a 38 % a los 60 ddg en tratamientos micorrizados con inóculo líquido (20).

La respuesta encontrada para este indicador en el tratamiento no inoculado puede estar relacionada con la presencia de algunas estructuras fúngicas que persistieron tras el proceso de esterilización del suelo, siendo dicho propágulo menos infectivo que la especie inoculada en este ensayo.

El comportamiento de la intensidad de la colonización micorrízica durante el ensayo se muestra en la Figura 3. En el primer muestreo realizado se encontró que los tratamientos inoculados con esporas almacenadas por tres, cuatro, cinco y seis meses mostraron un comportamiento similar al tratamiento con inóculo sólido (T7), alcanzando valores cercanos a 0,13 %. En otro orden, los tratamientos inoculados con esporas almacenadas por uno y dos meses (T1 y T2) mostraron un comportamiento similar con valores que oscilaron entre 0,05 % y todos los tratamientos inoculados difirieron significativamente del control no inoculado.

En el segundo muestreo se pudo apreciar que los tratamientos T1, T4, T5 y T7 (inoculados con esporas almacenadas por uno, cuatro, cinco y siete meses respectivamente) alcanzaron valores superiores (0,53 %) difiriendo significativamente de los tratamientos T2, T3 y T6 (inoculados con esporas almacenadas por dos, tres y seis meses respectivamente) con valores que oscilaron entre 0,40-0,45 %. El tratamiento no inoculado mantuvo el mismo comportamiento que en el muestreo anterior. Estudios realizados en plantas de trigo arrojaron valores de intensidad de colonización de 0,49 % cuando se inocularon con HMA en formulación líquida, el cual fue inferior al encontrado en este estudio (20).

Al realizar un análisis integral de los indicadores de funcionamiento micorrízico se deduce que ambas formas de inoculación (líquido o sólido) resultaron promisorias para las plantas de sorgo.



A: 30 ddg B: 60 ddg

1: inóculo líquido (un mes); 2: inóculo líquido (dos meses)
3: inóculo líquido (tres meses); 4: inóculo líquido (cuatro meses)
5: inóculo líquido (cinco meses); 6: inóculo líquido (seis meses)
7: inóculo sólido y 8: control sin inocular

Figura 3. Influencia de la inoculación sobre la intensidad de colonización micorrízica.

Influencia de la inoculación con *Glomus cubense* en indicadores del crecimiento de las plantas

Uno de los beneficios que se le atribuye a los HMA es su capacidad para promover el crecimiento y desarrollo vegetal (21), y en las Figuras 4 y 5 se muestra la influencia de la inoculación sobre la masa seca de la raíz y la masa seca foliar respectivamente. Se encontró un comportamiento similar en ambos muestreos en cuanto al comportamiento de los tratamientos inoculados en relación con el control, lo que permite aseverar la efectividad del establecimiento micorrízico para ambas formas de inoculación (sólido y líquido) en los dos indicadores evaluados.

El efecto de la inoculación de HMA sobre indicadores de crecimiento y desarrollo de las plantas ha sido ampliamente avalado en numerosos estudios, no sólo por la habilidad de dichos simbioses para colonizar una raíz, sino para tomar del suelo y transferir a la planta nutrientes como el fósforo y el nitrógeno, constituyendo este uno de los aspectos clave que determina la eficacia de la simbiosis (4, 5).

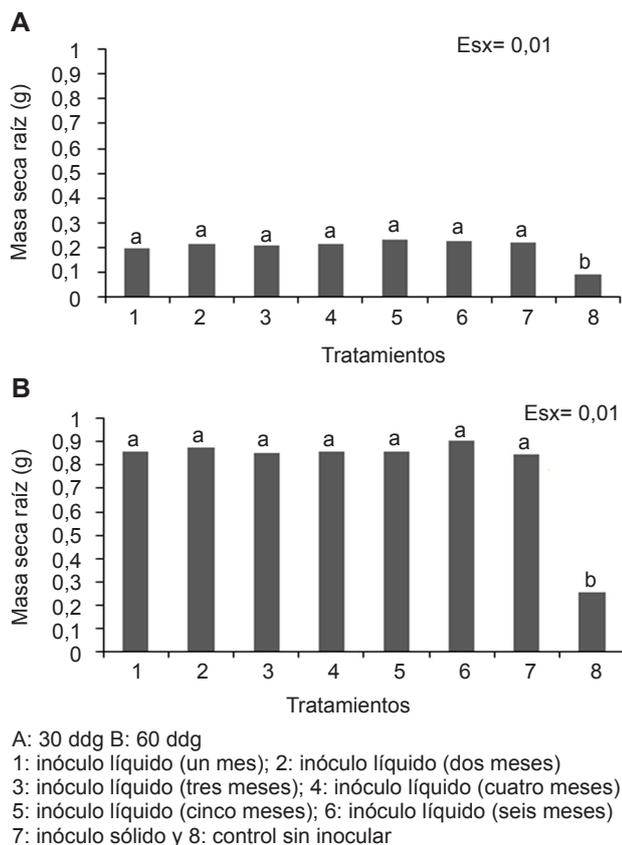


Figura 4. Influencia de los tratamientos sobre la masa seca de la raíz (g).

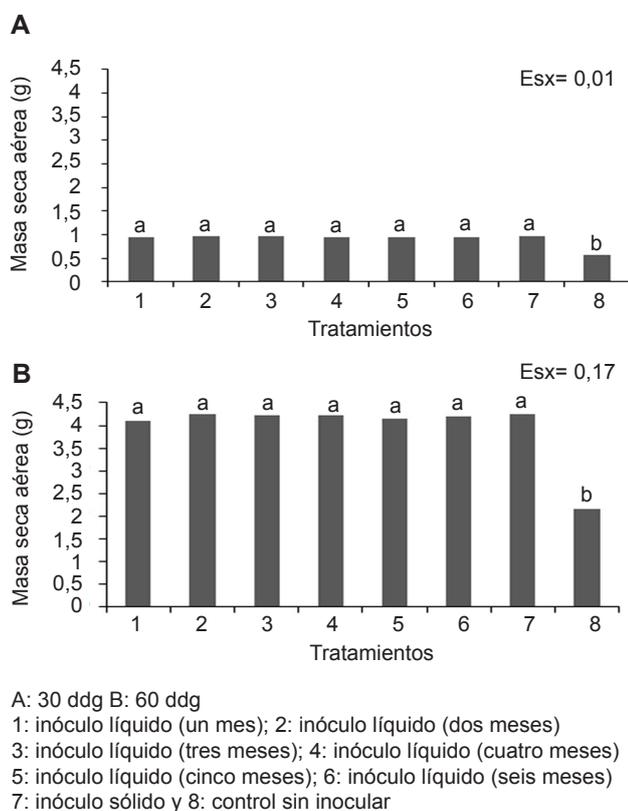


Figura 5. Influencia de los tratamientos sobre la masa seca aérea (g).

Los resultados de esta investigación demostraron la efectividad de la solución osmoprotectora del inoculante líquido al mantener la viabilidad de las esporas de HMA durante todos los tiempos estudiados. Por otra parte, se encontraron incrementos de proteínas totales en el inoculante líquido en todos los tiempos estudiados, siendo superior a los 4 meses. Se obtuvo un efecto positivo en los indicadores de funcionamiento micorrízico y del crecimiento de las plantas de sorgo al inocular las esporas de HMA almacenadas hasta los 6 meses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Klabi, R.; Hamel, C.; Schellenberg, M.P.; Iwaasa, A.; Raies, A. y St-Arnaud, M. "Interaction between legume and arbuscular mycorrhizal fungi identity alters the competitive ability of warm-season grass species in a grassland community", *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 70, marzo de 2014, pp. 176-182, ISSN 0038-0717, DOI 10.1016/j.soilbio.2013.12.019.
2. Miranda, D.; Fischer, G. y Ulrichs, C. "The influence of arbuscular mycorrhizal colonization on the growth parameters of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) plants grown in a saline soil", *Journal of soil science and plant nutrition*, vol. 11, no. 2, enero de 2011, pp. 18-30, ISSN 0718-9516, DOI 10.4067/S0718-95162011000200003.
3. Neumann, E. y George, E. "Nutrient Uptake: The Arbuscular Mycorrhiza Fungal Symbiosis as a Plant Nutrient Acquisition Strategy" [en línea], eds. Koltai, H. y Kapulnik, Y., *Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function*, edit. Springer Netherlands, 2010, pp. 137-167, ISBN 978-90-481-9488-9, [Consultado: 5 de mayo de 2015], Disponible en: <http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-90-481-9489-6_7>.
4. Abo-Rekab, Z.; Darwesh, R. y Hassan, N. "Effect of arbuscular mycorrhizal fungi, NPK complete fertilizers on growth and concentration nutrients of acclimatized date palm plantlets", *Mesopotamia Journal of Agriculture*, vol. 38, 2010, pp. 9-19, ISSN 1815316X.
5. Mrnka, L.; Kuchár, M.; Cieslarová, Z.; Matějka, P.; Száková, J.; Tlustoš, P. y Vosátka, M. "Effects of Endo- and Ectomycorrhizal Fungi on Physiological Parameters and Heavy Metals Accumulation of Two Species from the Family Salicaceae", *Water, Air, & Soil Pollution*, vol. 223, no. 1, 6 de julio de 2011, pp. 399-410, ISSN 0049-6979, 1573-2932, DOI 10.1007/s11270-011-0868-8.
6. McCain, K.N.S.; Wilson, G.W.T. y Blair, J.M. "Mycorrhizal suppression alters plant productivity and forb establishment in a grass-dominated prairie restoration", *Plant Ecology*, vol. 212, no. 10, 19 de junio de 2011, pp. 1675-1685, ISSN 1385-0237, 1573-5052, DOI 10.1007/s11258-011-9940-0.
7. Ruiz-Lozano, J.M.; Porcel, R.; Azcón, C. y Aroca, R. "Regulation by arbuscular mycorrhizae of the integrated physiological response to salinity in plants: new challenges in physiological and molecular studies", *Journal of Experimental Botany*, vol. 63, no. 11, 6 de enero de 2012, pp. 4033-4044, ISSN 0022-0957, 1460-2431, DOI 10.1093/jxb/ers126, [PMID: 22553287].

8. Banuelos, J.; Alarcón, A.; Larsen, J.; Cruz-Sánchez, S. y Trejo, D. "Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and *Meloidogyne incognita* in the ornamental plant *Impatiens balsamina*", *Journal of soil science and plant nutrition*, vol. 14, no. 1, marzo de 2014, pp. 63-74, ISSN 0718-9516, DOI 10.4067/S0718-95162014005000005.
9. Cicatelli, A.; Todeschini, V.; Lingua, G.; Biondi, S.; Torrigiani, P. y Castiglione, S. "Epigenetic control of heavy metal stress response in mycorrhizal versus non-mycorrhizal poplar plants", *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 21, no. 3, 24 de agosto de 2013, pp. 1723-1737, ISSN 0944-1344, 1614-7499, DOI 10.1007/s11356-013-2072-4.
10. Corbera, J. y Nápoles, M.C. "Evaluación de la inoculación conjunta bradyrhizobium japonicum-hongos ma y la aplicación de un bioestimulador del crecimiento vegetal en soya, cultivada en época de primavera", *Cultivos Tropicales*, vol. 32, no. 4, diciembre de 2011, pp. 13-19, ISSN 0258-5936.
11. Rivera Espinosa, R.A.; Martín Cardenas, J.V.; Calderón Puig, A. y Torrez Hernández, A. "Utilización de cepas eficientes de hongos micorrizicos arbusculares en el desarrollo de portainjertos de aguacate en un sustrato suelo- cachaza", *Cultivos Tropicales*, vol. 32, no. 2, junio de 2011, pp. 172-183, ISSN 0258-5936.
12. Rivera Espinosa, R.; Fundora Sánchez, L.R.; Calderón Puig Especialista, A.; Martín Cárdenas, J.V.; Marrero Cruz, Y.; Martínez, L.R.; Simó González, J.; Riera Nelson, M. y Joao, J.P. "La efectividad del biofertilizante EcoMic® en el cultivo de la yuca. resultados de las campañas de extensiones con productores", *Cultivos Tropicales*, vol. 33, no. 1, marzo de 2012, pp. 5-10, ISSN 0258-5936.
13. Fernández, F.; Dell'Amico, J.M.; Angoa, M.V. y la Providencia, I.E. de. "Use of a liquid inoculum of the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus hoi* in rice plants cultivated in a saline Gleysol: A new alternative to inoculate", *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, vol. 3, no. 2, 2011, pp. 24-33, ISSN 2006-9758.
14. Rodríguez, Y.; Dalpé, Y.; Séguin, S.; Fernández, K.; Fernández, F. y Rivera, R.A. "*Glomus cubense* sp. nov., an arbuscular mycorrhizal fungus from Cuba", *Mycotaxon*, vol. 118, no. 1, 2012, pp. 337-347, ISSN 2154-8889.
15. Gerdemann, J.W. y Nicolson, T.H. "Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting", *Transactions of the British Mycological Society*, vol. 46, no. 2, junio de 1963, pp. 235-244, ISSN 0007-1536, DOI 10.1016/S0007-1536(63)80079-0.
16. Bradford, M.M. "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding", *Analytical Biochemistry*, vol. 72, no. 1-2, 7 de mayo de 1976, pp. 248-254, ISSN 0003-2697, DOI 10.1016/0003-2697(76)90527-3.
17. Hernández, A.; Pérez, J.; Bosch, D. y Castro, N. *Clasificación de los suelos de Cuba 2015*, edit. Ediciones INCA, Mayabeque, Cuba, 2015, p. 93, ISBN 978-959-7023-77-7.
18. Phillips, J.M. y Hayman, D.S. "Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection", *Transactions of the British Mycological Society*, vol. 55, no. 1, agosto de 1970, pp. 158-161, ISSN 0007-1536, DOI 10.1016/S0007-1536(70)80110-3.
19. Cranenbrouck, S.; Voets, L.; Bivort, C.; Renard, L.; Strullu, D.-G. y Declerck, S. "Methodologies for in Vitro Cultivation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi with Root Organs" [en línea], eds. Declerck, P.D.S.; Fortin, P.J.A. y Strullu, P.D.D.-G., *In Vitro Culture of Mycorrhizas*, edit. Springer Berlin Heidelberg, 2005, (ser. Soil Biology, no. ser. 4), pp. 341-375, ISBN 978-3-540-24027-3, [Consultado: 14 de marzo de 2015], Disponible en: <http://link.springer.com/chapter/10.1007/3-540-27331-X_18>.
20. Plana, R.; González, P.J.; Fernández, F.; Calderón, A.; Marrero, Y. y Dell'Amico, J.M. "Efecto de dos inoculantes micorrizicos arbusculares (base líquida y sólida) en el cultivo del trigo duro (*Triticum durum*)", *Cultivos Tropicales*, vol. 29, no. 4, diciembre de 2008, pp. 35-40, ISSN 0258-5936.
21. Smith, S.E. y Read, D.J. *Mycorrhizal Symbiosis* [en línea], 3.ª ed., edit. Academic Press, 2008, p. 816, ISBN 978-0-08-055934-6, [Consultado: 14 de marzo de 2015], Disponible en: <http://books.google.com/cu/books?hl=es&lr=&id=qLciOaG0C4C&oi=fnd&pg=PP2&dq=Mycorrhizal+Symbiosis%2B+3rd+edition&ots=zptWjUVGqH&sig=kh7kEX_L6EDUheQxORmFMKIIQ4&redir_esc=y#v=onepage&q=Mycorrhizal%20Symbiosis%2B%203rd%20edition&f=false>.

Recibido: 8 de enero de 2014

Aceptado: 24 de julio de 2014

¿Cómo citar?

Mena Echevarría, Aracely; Mujica Pérez, Yonaisy; Fernández Suárez, Kalyanne y Dell' Amico Rodríguez, José. Viabilidad funcional y capacidad de colonización de hongos micorrizicos arbusculares (*Glomus cubense*) en medio líquido. [en línea]. *Cultivos Tropicales*, 2015, vol. 36, no. 3, pp. 27-33. ISSN 1819-4087. [Consultado: ____]. Disponible en: <----->.