

UTILIZACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS BIOFERTILIZANTES EN LOS CULTIVOS TROPICALES

Marta Hernández, Madeline Pereira y M. Tang

**Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey"
Matanzas, Cuba**

El empleo de microorganismos biofertilizantes constituye una vía importante para atenuar la escasez de fertilizantes minerales, a la vez que contribuye a disminuir los costos de la producción agrícola, ya que la fijación biológica logra cubrir hasta el 50% del nitrógeno necesario para las plantas (Martínez Viera, 1986), además, estos microorganismos ayudan a mantener el equilibrio biológico, ya que no producen afectaciones al suelo, a la salud y al ambiente en general.

Ello resulta de suma importancia en los momentos actuales en que se dan los primeros pasos para cambiar la llamada Agricultura Moderna por la Agricultura Orgánica, que propugna la sostenibilidad de los sistemas agrícolas desde el punto de vista productivo, ecológico, económico y social (García-Trujillo, 1993).

En Cuba el uso de los biofertilizantes ha tomado auge en los últimos años y se han desarrollado varios estudios en cultivos como el tomate, pimiento, tabaco, cebolla, plátano y arroz, entre otros. Sin embargo, en los pastos los trabajos se han encaminado, fundamentalmente, a la inoculación de las leguminosas con cepas de *Rhizobium*, en las gramíneas, como la caña de azúcar, se ha utilizado el *Azospirillum* y hasta el momento se han obtenido resultados alentadores que indican la posibilidad de poder sustituir entre un 15 y un 20% del fertilizante mineral nitrogenado (Treto y Arzola, 1993).

Entre los microorganismos de mayor importancia para los cultivos se encuentran el rizobio, el azotobacter, el azospirillum y las

micorrizas vesículo-arbusculares. En esta reseña se abordan sus características fundamentales (tabla 1), así como el efecto que producen en los diferentes cultivos. Además se enfatiza, mediante ejemplos con varias plantas, la importancia que tiene el uso combinado de estos biofertilizantes en la obtención de rendimientos más altos y en la mejor utilización de los elementos minerales del suelo y de los fertilizantes.

Rizobios

Estos microorganismos son capaces de fijar el dinitrógeno atmosférico mediante la asociación simbiótica con las leguminosas. En la actualidad el antiguo género *Rhizobium* se ha dividido en dos: *Rhizobium* y *Bradyrhizobium*, los cuales han sido separados atendiendo a algunas características como son su velocidad de crecimiento y la producción de ácido o álcalis y muestran a su vez diferentes especies y biovariedades en dependencia de su acción sobre las distintas leguminosas.

El proceso simbiótico entre la leguminosa y el rizobio es el que muestra un mayor potencial, ya que en general se fijan cantidades entre 100 y 200 kg de N/ha/año, aunque algunas especies pueden llegar a cifras mayores; por ejemplo, en *Centrosema pubescens* se han encontrado fijaciones de 520 kg de N/ha/año (Moore, 1967), en *Desmodium intortum* hasta 303 (Whitney, Kanehiro y Sherman, 1967) y en *Phaseolus aureus* de 224 kg (Aghoola y Fayemi, 1972). En este sentido se ha planteado que el total de nitrógeno fijado por medios naturales a nivel

mundial asciende a la cifra de 175 millones de toneladas, de los cuales 35 millones corresponden al proceso de fijación simbiótica establecido entre las leguminosas y los rizobios (Da Silva, Freire, Hillali y Keya, 1987), lo cual demuestra la alta contribución de dicho fenómeno.

Para que este proceso ocurra satisfactoriamente es necesario que se establezca una interacción eficiente entre las leguminosas y las distintas cepas, ya que existe especificidad de dichas plantas en sus requerimientos de rizobios (Date, 1977; Tang, 1988).

En general, las leguminosas forrajeras tropicales se han dividido en tres grupos según sus requerimientos de rizobios: a) las que presentan un amplio rango de cepas que las nodulan efectivamente; b) las que presentan

un amplio rango de cepas que las nodulan pero esta nodulación a menudo no es efectiva; c) las que presentan alta especificidad en sus requerimientos de rizobios.

En el último grupo se han informado diferentes géneros de leguminosas como *Centrosema* (Bowen, 1959), *Desmodium* (Norris, 1967; Diatloff, 1968; Sylvester Bradley, Ayarza, Méndez y Moriones, 1983), *Leucaena* (Trinick, 1968; Tang, Tamayo y Castro, 1983) y *Stylosanthes* (Souto y Döbereiner, 1970; Tang, 1986; Tang y Menéndez, 1987); mientras que otras leguminosas como *Macroptilium*, *Lablab* y *Teramnus* han resultado promiscuas en sus requerimientos de rizobium. De ahí la importancia de establecer una interacción efectiva entre la leguminosa y la cepa de rizobio específica para obtener un adecuado proceso de fijación simbiótica del dinitrógeno atmosférico.

Tabla 1. Características fundamentales de los microorganismos.

Organismo	Propiedades generales	Uso en la agricultura
Rhizobium	Altamente fijador del nitrógeno atmosférico en simbiosis con las leguminosas. Bacilo microaeróbico, con especificidad para nodular a las diferentes leguminosas. Su acción efectiva puede depender de diversos factores físicos, nutricionales y biológicos	Aportan el nitrógeno necesario para el desarrollo de las leguminosas; en general se estiman fijaciones entre 100 y 200 kg de N/ha/año y en ocasiones mayores
Azotobacter	Aeróbico, fija en condiciones de vida libre; puede encontrarse en el suelo, el agua, la rizosfera y la superficie de las hojas Produce sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal	Beneficia a los cultivos por ejercer efectos hormonales sobre el crecimiento de las plantas y las raíces
Azospirillum	Microacrófilo, fija en condiciones de vida libre o en asociación con las raíces de las gramíneas. Produce también sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal.	Es usado potencialmente para incrementar los rendimientos. También ejerce efectos hormonales sobre el crecimiento de las raíces y las plantas
Micorrizas	Simbiontes obligados, se asocian a las raíces de las plantas. Producen una mayor asimilación del fósforo y otros elementos, incrementando el área de absorción	Con su empleo, la fertilización se hace más eficiente y disminuye la dosis a aplicar

Azotobacter

El nombre de este género de bacterias proviene de la palabra francesa "azoto", que quiere decir nitrógeno, y del griego "bacter", que significa bacilo. De él se han descrito cuatro especies: *A. chroococcum*, *A. vinelandu*, *A. beijerinckii* y *A. paspali* (Martínez Viera, 1986); se ha planteado que esta última es específica para el pasto *Paspalum notatum*.

En general se ha encontrado que existe en diferentes regiones del planeta, tanto tropicales y subtropicales como templadas, aunque en las últimas la frecuencia de aparición es menor (Dobereiner, 1968).

El género *Azotobacter* presenta una doble función, y que es capaz de fijar el dinitrógeno atmosférico como microorganismo de vida libre y además producir sustancias estimuladoras del crecimiento, entre ellas auxinas, giberelinas, citoquininas, aminoácidos y vitaminas.

Su capacidad de fijación varía considerablemente en dependencia de ciertos factores, como la fuente de carbono y nitrógeno que empleen, así como de algunos microelementos. Otros factores físicos pueden tener influencia sobre ellos, como son: el pH, la aereación y la temperatura (Martínez Viera, 1986). En este sentido se han realizado diferentes trabajos en algunos países como Brasil, India y la comunidad de Estados Independientes (CEI). En la India se han obtenido incrementos en los rendimientos de trigo, arroz, cebolla, tomate y col; mientras que en la CEI se obtuvieron buenos resultados en las hortalizas. Sin embargo, en Brasil las respuestas han sido variadas, ya que en algunos casos se han logrado mejoras en los niveles de nitrógeno del suelo; mientras que en otros no han existido respuestas, debido quizás a la fertilización nitrogenada empleada (Martínez Viera, Dibut, González, Martín, Hernández, Acosta, Casanova y Pérez, 1989).

En Cuba el Instituto de Investigaciones

Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt" (INIFAT) ha realizado diferentes estudios, principalmente en la dirección de la producción de sustancias estimuladoras del crecimiento, empleando nuevos medios de cultivo, con resultados satisfactorios en tomate, cebolla, ajo, ají, pepino y remolacha. En tomate se han logrado incrementos en la germinación entre 31 y 46%, en el diámetro de los frutos entre 3 y 13%, en los rendimientos entre 36 y 62% y en el peso entre 3 y 27% (Martínez Viera *et al.*, 1989).

Otros estudios preliminares han mostrado la acción beneficiosa de estos microorganismos en los pastos y otros cultivos desarrollados en Cuba, por lo que es necesario continuar en la profundización y conocimiento de dicho género.

Azospirillum

El estudio de las bacterias aerobias fijadoras de nitrógeno data del año 1925, cuando Beijerinck (citado por Tarrand, Kreig y Dobereiner, 1978) describió a estas bacterias como *Spirillum lipoferum*, pertenecientes a la familia *Spirillaceae*, género *Spirillum*. En 1978 Tarrand *et al.* reclasificaron este género con el nombre de *Azospirillum* y describieron dos especies: *A. lipoferum* (reclasificado) y *A. brasilense*; en la década del 80 fueron descritas dos nuevas especies: *A. amazonense* (Magalhaes, Baldani, Souto, Kuykendall y Dobereiner, 1984) y *A. halopraeferans* (Reinhold, Hurek, Fendrik, Pot, Gillis, Kersters, Thielemans y Deley, 1987).

En la actualidad las bacterias de este género son ampliamente estudiadas por su capacidad de fijar el dinitrógeno atmosférico y de producir sustancias estimuladoras del crecimiento y desarrollo vegetal. Así, Velazco (1993) informó que a nivel mundial la biofertilización con *Azospirillum* sp. en las gramíneas como trigo, arroz, cebada y pastos, produce incrementos en los rendimientos hasta

de un 25% y/o la disminución de la dosis de fertilizante mineral.

Los estudios realizados en Cuba sobre la aplicación de biopreparados a base de *Azospirillum* (cepa Sp 8) y su efecto sobre la productividad de la caña de azúcar en un suelo Ferralítico Cuarcítico, demostraron que una dosis de inoculación de 100 l/ha permite la sustitución de 120-80-180 kg de NPK/ha respectivamente (Roldós, González, Pérez, García, Hernández, Gil y Menéndez, 1992).

Los resultados obtenidos por Hernández, Díaz y González (1992) en 3 variedades de arroz (IIA-C 14, IIA-C 15 e INCA-LP₁) mostraron que con la inoculación de *Azospirillum brasilense* se logró ahorrar desde un 25 hasta un 50% de la fertilización nitrogenada sin afectarse el rendimiento agrícola.

Al inocular *Panicum maximum* cv. Likoni (guinea) y *Chloris gayana* cv. Callide (rhodes) con cinco cepas de *Azospirillum* (Sp-7, G-4 nd, Br-17, K-19 y K-3), Pereira, Rolo, Rodríguez y Ávila (1993) obtuvieron en la guinea un incremento en los rendimientos de un 120, 95 y 94% para las cepas Br-17, K-19 y Sp-7 respectivamente, al compararlo con un control sin inocular en el rhodes las cepas K-19 y K-3 incrementaron en un 134 y 80% respectivamente el contenido de nitrógeno de la planta, aunque en el rendimiento no se lograron incrementos significativos. Estos autores informaron que dicha bacteria puede fijar entre 20 y 60 kg de N/ha/año, aunque se han informado valores superiores para algunos pastos inoculados con cepas específicas y en determinados tipos de suelo.

En un trabajo realizado en Brasil por Pereira, Cavalcante, Baldani y Dobereiner (1989) se encontró que la inoculación del sorgo (*Sorghum vulgare*) con *A. lipoferum* S82, incrementó significativamente el peso seco de la planta; el peso de la panícula y el nitrógeno total también fueron incrementados en un 54 y 66% respectivamente, equivalente

a lo obtenido con la aplicación de 75 kg de N/ha.

Estos resultados demuestran la necesidad de seguir profundizando en el estudio de diferentes cepas de dicho microorganismo con vistas a atenuar la escasez de fertilizantes minerales en los pastos.

Micorrizas

Las micorrizas son asociaciones entre ciertos hongos del suelo y las raíces de las plantas y este término fue primeramente propuesto por el botánico alemán Albert Bernard Frank en el año 1885.

Existen tres tipos de micorrizas: las ectomicorrizas, las ectendomicorrizas y las endomicorrizas; dentro de estas últimas las vesículo-arbusculares constituyen la simbiosis micorrízica más extendida sobre el planeta, tanto por el número de los posibles hospederos, como por su distribución geográfica.

Las micorrizas vesículo-arbusculares (MVA) son extremadamente eficientes en la absorción de iones de baja solubilidad y tienen la capacidad de mejorar la nutrición mineral, ya que aumentan la superficie de absorción del sistema radical e incrementan la toma de ciertos nutrientes, especialmente del fósforo, así como del N y el K; además las raíces son más resistentes al ataque de algunos hongos del suelo como *Phytophthora*, *Pythium* y *Fusarium* (Gardemann, 1974; Powell, 1975; Michel, Valdés y .Sánchez, 1991)

Uno de los problemas fundamentales que se presentan en los suelos tropicales dedicados al cultivo de los pastos es la baja disponibilidad de fósforo asimilable, una de las vías para solucionar esta deficiencia puede ser la inoculación con micorrizas, ya que en estudios realizados por Medina-González, Sylvia y Kretschmer (1987) con un grupo de leguminosas entre las que se encontraban *Macroptilium atropurpureum*, *Stylosanthes*

humilis y *S. guianensis*, se demostró lo beneficioso de introducir las MVA para incrementar el crecimiento de estas forrajeras en suelos con bajos contenidos de P.

Posteriormente, Paulino, Costa y Schammas (1990) plantearon que la inoculación de leguminosas como *Centrosema* y *Pueraria* con micorrizas y una dosis significativamente baja de P, constituye una forma económica de aumentar la productividad de las pasturas en suelos pobres; además observaron que las plantas no micorrízicas presentaron cantidades inferiores de P y N que las micorrízicas.

Saif (1986) encontró que en los suelos de Carimagua, Colombia, las aplicaciones de dosis altas de fósforo tendieron a reducir la infección micorrízica; mientras que los niveles bajos estimularon la misma.

Según los resultados hallados por Byra-Reddy y Bagyaraj (1989), se puede ahorrar aproximadamente el 40% del fertilizante fosfórico si se inocula la leucaena con *Glomus versiforme*.

Los resultados aquí expuestos revisten una gran importancia para los suelos dedicados a la ganadería en Cuba, que generalmente son los menos fértiles y en los que el elemento fósforo constituye una limitante para el crecimiento y desarrollo de los pastos. En este sentido, los resultados preliminares informados por Hernández y Cárdenas (1994) en *Panicum maximum* cv Likoni demostraron un efecto significativo al inocular con *Glomus fasciculatum* y *G. mosseae*, las cuales produjeron más del doble de MS que el control; en *Centrosema pubescens* IH-129 el mayor incremento se encontró cuando se inoculó con *G. occultum* (Hernández y Cárdenas, 1994a).

Acción combinada de los biofertilizantes

Se ha demostrado que las micorrizas potencian la capacidad de la fijación biológica del N en las leguminosas (Daft y El-Giahmi,

1975). Así, en un trabajo desarrollado por Ferrera-Cerrato y Villerias (1984) en palo dulce (*Eysenhardtia polystachya*), se encontró que las cepas de rizobio SLP-1 y CESAT-35 fueron incapaces de producir nódulos en ausencia de las micorrizas; además, el mayor contenido de P (0,28%) se halló en el tratamiento con la cepa de rizobio CESAT-35 + *Glomus* sp.

En leucaena (*Leucaena leucocephala*) Guzmán-Plazola, Ferrera-Cerrato y Etchevers (1988) informaron que *Rhizobium loti* solamente produjo efectos significativos en las plantas inoculadas con micorriza. Además, hallaron que el efecto de la MVA en la nutrición y el desarrollo de las plantas se redujo con el incremento del P en el suelo, debido al efecto depresivo de este elemento en la colonización de las micorrizas.

Los trabajos realizados posteriormente por Costa y Paulino (1990) en leucaena demostraron que el mayor rendimiento de MS (10,4 g/maceta) se alcanzó cuando la leucaena se inoculó con rizobio y micorriza al compararlo con rizobio (5,7) o micorriza (8,1) por separado. En otros indicadores medidos también los mejores resultados se obtuvieron por la acción conjunta de estos dos microorganismos (tabla 2).

Uno de los beneficios que se les atribuye a las MVA es el de aumentar la actividad de otros microorganismos como el Azopirillum, el Azotohacter y las bacterias solubilizadoras del fósforo (Sánchez de Prager, 1991).

Así, al inocular el sorgo con *Azospirillum brasilense* y *Glomus fasciculatum*, Tilak y Rao (citados por Wani, 1990) encontraron un incremento significativo en el rendimiento de grano y de forraje en comparación con el tratamiento sin inocular, ya que se obtuvieron 2,6 vs 1,9 t de grano/ha y 5,6 y 4,2 t de MS/ha, respectivamente.

La inoculación con *Glomus fasciculatum* y con una bacteria solubilizadora de fósforo, permitió una utilización mayor del P de la roca fosfórica en alfalfa (*Medicago sativa*) que

cuando estos microorganismos se inocularon independientemente (Piccini y Azcon, 1987).

En cítricos, Cañizares, García, Ascuy, Nardo, Sosa y Herrera (1992) hallaron un mayor crecimiento y desarrollo de las plántulas

que fueron inoculados con combinaciones de micorriza, fosfobacterias y un estimulador de crecimiento vegetal, y plantearon lo beneficiosa que resulta la aplicación de estos biofertilizantes combinados, con el fin de reducir la estancia en los viveros.

Tabla 2. Efecto de la inoculación simple o combinada con rizobium y micorrizas en leucaena (según Costa y Paulino, 1990).

Tratamientos	MS (g/maceta)	N		P		Nodulación		Infección (%)
		%	(mg/maceta)	%	(mg/maceta)	No.	Peso seco (mg/maceta)	
Control	4,3 ^d	2,7 ^c	116,1 ^d	0,12 ^c	5,16 ^c	-	-	-
Rhizobium (R)	5,7 ^c	3,5a ^b	199,5 ^c	0,14 ^c	7,98 ^c	14 ^b	81,7 ^b	-
Micorriza (M)	8,1 ^b	3,0 ^{bc}	243,0 ^b	0,17 ^b	13,77 ^{bc}	-	-	54,6 ^b
R + M	10,4 ^a	3,9 ^a	405,6 ^a	0,24 ^a	24,96 ^a	22 ^a	143,2 ^a	69,7 ^a

a,b,c Valores con superíndices no comunes difieren a $P < 0,05$ (Duncan, 1955)

En *Centrosema pubescens*, Paulino y Azcon (1987) informaron que el crecimiento y la nutrición de esta leguminosa fueron mejorados considerablemente por la inoculación con *Glomus fasciculatum*, conjuntamente con bacterias u hongos solubilizadores de la roca fosfórica; en leucaena, Mohamad (1988) encontró los mayores efectos al inocular con *Rhizobium*, *Bacillus megaterium* y *G. fasciculatum*.

Los resultados hallados por Rawat y Sanoria (1976) y por Ram, Rawat y Joshi (1988) en garbanzo (*Cicer arietinum* Linn), demostraron que cuando las semillas fueron tratadas con *Rhizobium* y *Azotobacter* el comportamiento de la planta fue; mejor que cuando estos microorganismos no se combinaron.

Pahvva (1989) encontró en leucaena que la nodulación, los rendimientos de MV y MS y la proteína fueron significativamente mayores cuando se inoculó con una cepa específica de rizobio y dos cepas de *Azotobacter* (ICM-2001 y S-3).

De acuerdo con los resultados de la literatura, se hace necesario profundizar en el

estudio de la inoculación combinada de los diferentes microorganismos como fertilizantes.

CONCLUSIONES

Los microorganismos juegan un papel importante como fertilizantes para los pastos y forrajes, ya que además de aportar los nutrimentos esenciales a los mismos, contribuyen a mantener el equilibrio biológico, al no producir afectaciones al suelo o la salud y al ambiente en general.

De todos estos microorganismos el más estudiado en Cuba es el rizobium, el cual puede fijar, como promedio, entre 100 y 200 kg de N/ha/año

El *azotobacter* y el *azospirillum*, además de elevar los rendimientos, ejercen efectos estimuladores sobre el crecimiento de las plantas y las raíces; este último género puede fijar entre 20 y 60 kg de N/ha/año y producir hasta un 25% de incremento.

Las micorrizas tienen la capacidad de mejorar la nutrición mineral al aumentar la superficie de absorción del sistema radical; ello conlleva que la fertilización sea más

eficiente y se puedan disminuir las dosis a aplicar.

Se ha demostrado que la actividad de estas bacterias y hongos se estimula en mayor grado cuando las plantas son inoculadas conjuntamente con varios de ellos que al aplicarlos por separado, lo cual hace necesario profundizar en el conocimiento sobre la acción conjunta de dichos microorganismos.

Los resultados expuestos en esta reseña muestran que la fijación tanto simbiótica como no simbiótica es de gran importancia en la economía del nitrógeno. Además, el empleo de los biofertilizantes ayuda a asegurar la sostenibilidad de los sistemas agrícolas y a sanear el medio ambiente, ya que elimina los daños que causan las aplicaciones continuas de fertilizantes minerales.

CONCLUSIONS

The micro-organisms play an important role as fertilizers for pastures and forages, since that also to apport essential nutrients, contribute to maintain the biologic equilibrium due to they not produce negative effects on the soil, health and the environment in general.

Of all this micro-organisms the most studied in Cuba is the *Rhizobium*, which may fix as average between 100 and 200 kg of N/ha/year.

The azotobacter and azospirillum elevate the yields and also perform stimulators effect on plants and roots growth; the last one genus may fix between 20 and 60 kg of N/ha/year and produce until 25% of increase.

The mycorrhiza has capacity of improve the mineral nutrition by mean of increase the absorption surface of the root system; it carry out to obtain more efficient response to the fertilization and the dose of fertilizers can be reduced.

It has demonstrated that the activity of these bacteria and fungi are stimulate when the plants are inoculated conjunctly, with some of

them, that to apply for separated, due to it is necessary a profound study about conjunt action of these micro-organisms.

The results exposed in this review show that the fixation so much symbiotic as no-symbiotic is of great importance in the economy of nitrogen. Also the use of the biofertilizers helps to insure the sustainability of the agricultural systems and to give security to the environmental conditions; since they eliminate the damage that produce the continuous applications of mineral fertilizers.

REFERENCIAS

- AGBOOLA, A.A. & FAYEMI, A.A. 1972. Fixation and excretion of nitrogen by tropical legumes. ***Agron. J.*** 64:409
- BOWEN, G.D. 1959. Specificity and nitrogen fixation in *Rhizobium* symbiosis of *Centrosema pubescens* Benth. ***Qd. J. Agric. Sci.*** 16:267
- BYRA-REDDY, M.S. & BAGYARAJ, D.J. 1989. Phosphate response curves of VA Mycorrhiza-inoculated and uninoculated leucaena. ***Leucaena Research Report.*** 10:22
- CAÑIZARES, E.G.; GARCÍA, MARÍA J.; ASCUY, JULIA; NARDO, A.; SOSA, J. & HERRERA, R.A. 1992. Efecto de la inoculación de hongos micorrizógenos vesículo-arbusculares (MVA) y otros biofertilizantes sobre el crecimiento de plántulas de cítricos (*Citrus volkameriana*). Programa y Resúmenes VIII Seminario Científico. I Taller Internacional sobre Biofertilización en los Trópicos. INCA. La Habana, Cuba. p. 39
- COSTA, N. de L. & PAULINO. V.T. 1990. Response of leucaena to single and combined inoculation with *Rhizobium* and mycorrhiza. ***Leucaena Research Reports.*** 11 45
- DAFT, M.J. & EL-GIAHMI, A.A. 1975. Effect of Glomus infection on three legumes. In: Endomycorrhizal (F.E. Sanders, B Mosse and

- P.B. Tinker, Eds.). Academic Press, London p. 581
- DA SILVA, E.J.; FREIRE, J.; HILLALI, A & KEYA, S.O. 1987. Nuestros amigos los microbios. El Correo UNESCO. Marzo, p. 27
- DATE, R.A. 1977. Inoculation of tropical pasture legumes. In: Exploiting the legume-Rhizobium symbiosis in tropical agriculture. **Coll. Trop. Agric. Univ. Hawaii. Spec. Pub.** 45.
- DIATLOFF, A. 1968 Nodulation and nitrogen fixation in some *Desmodium* sp. **Qd. J. Agric. Sci.** 25:165
- DOBEREINER, JOHANNA. 1968. Non symbiotic nitrogen fixation in tropical soils. **Pesq. agropec. bras.** 3:1
- FERRERA-CERRATO, R., & VILLERIAS, S.J. 1984. Effects of Glomus-Rhizobium double inoculation on the growth of *Eysenhardtia polystachya* (Ort) Sarg. **Nitrogen Fixing Tree Research Reports.** 2:15
- GARCIA-TRUJILLO, R. 1993. Tendencias mundiales de la Agricultura Orgánica. Conferencias y Mesas Redondas. Primer Encuentro Nacional de Agricultura Orgánica. ISCAH, La Habana, Cuba. p. 1
- GARDEMANN, J.W. 1974. *Mycorrhizae*. In; The plant root and its environment (E.W. Caron, Ed.). IJUniversity Press of Virginia, Charlottesville. p. 205
- GUZMAN-PLAZOLA, R.A.. FERRERA-CERRATO, R. & ETCHEVERS. J.D. 1988. *Leucaena leucocephala*, a plant of high mycorrhizal dependence in acid soils. **Leucaena Research Reports.** 969
- HERNÁNDEZ, MARTA & CÁRDENAS, M. 1994. Efecto de la inoculación con micorriza en guinea cv. Likoni **Pastos y Forrajes.** 17 51
- HERNÁNDEZ, MARTA & CÁRDENAS, M. 1994a. Efecto de las micorrizas vesículo-arbusculares en *Centrosema pubescens* IH-129. **Pastos y Forrajes.** 17:149
- HERNÁNDEZ, TERESA; DÍAZ, G.S. & GONZÁLEZ, J.R. 1992. Respuesta de las mejores variedades de arroz de ciclo medio al biofertilizante *Azospirillum brasilense*. Programa y Resúmenes VIII Seminario Científico. I Taller Internacional sobre Biofertilización en los Trópicos. INCA. La Habana, Cuba. p. 43
- MAGALHAES, F.M.M.; BALDANI, J.L.; SOUTO, S.M.; KUYKENDALL, J.R. & DOBEREINER, JOHANNA. 1984. A new acid tolerant *Azospirillum* species. **An. Acad. Bras. Cien.** 55:417
- MARTÍNEZ VIERA, R. 1986. Ciclo biológico del nitrógeno en el suelo. Editorial Científico Técnica. La Habana, Cuba. 167 p.
- MARTÍNEZ VIERA, R.; DIBUT. B.; GONZÁLEZ, R.; MARTÍN, B.; HERNÁNDEZ, M.; ACOSTA. D.; CASANOVA, I. & PÉREZ, M. 1989. Resultados obtenidos en condiciones de producción mediante la aplicación de un método biotecnológico que permite incrementar los rendimientos de tomate sobre suelo Ferralítico Rojo. INFAT-MINAG, La Habana. Informe final. (Mimeo)
- MEDINA-GONZALES, O.A.; SYLVIA, D.M. & KRETSCHMER, Jr. A.E. 1987 Growth response of tropical forage legumes to inoculation with *Glomus intraradices*. **Trop. Grassl.** 21-24
- MICHEL, A.; VALDÉS, MARÍA & SÁNCHEZ, F. 1991 Colonización micorrícica del limón mexicano (*Citrus aurantifolia* Swingle) en urea agroecosistemas diferentes del Valle de Tecomán, Col. Resúmenes IV Reunión de Avances Agropecuarios. Trópico 91. Universidad de Colima, México, p. 87
- MOHAMMAD, O 1988 Response of *Leucaena leucocephala* K 8 to inoculation with *Rhizobium*, *Bacillus megaterium* and *Glomus fasciculatum*. **Leucaena Research Reports.** 9:51
- MOORE, A.W. 1967. The influence of legume on soil fertility under a grassed tropical pastures. **Emp. J. Exp. Agric.** 30:239
- NORRIS, D.O. 1967. The intelligent use of inoculation and lime pelleting for tropical legumes. **Trop. Grassl.** 1:107
- PAHWA, M.R. 1989. Effect of seed inoculation of *Leucaena leucocephala* with *Rhizobium* and

- Azotobacter*. **Leucaena Research Reports**. 10:34
- PAULINO, V.T. & AZCON, R. 1987 Respostas de *Centrosema pubescens* Benth. a inoculacao de Micorriza vesículo-arbuscular e microorganismos solubilizadores de fosfato em meio com fosfatos de rocha. **R. Bras. Ci. Sol.** 11:263
- PAULINO, V.T.; COSTA, N.L. & SCHAMMAS, E.M. 1990. Effects of mycorrhizal inoculation on growth, nitrogen and phosphorus contents of two tropical forage legumes. **Revista de Agricultura**. 65:151
- PEREIRA, J.A.R., CAVALCANTE, V.A.; BALDANI, J.I. & DOBEREINER, JOHANNA. 1989. Field inoculation of sorghum and rice with *Azospirillum* spp. and *Herbaspirillum seropedicae*. In: Nitrogen fixation with non-legumes. (Ed. by F.A. Skinner, R.M. Boddey and I. Fendrik). Kluwer Academic Publishers. The Netherlands. p. 219
- PEREIRA, MADELINE; ROLO, R.; RODRÍGUEZ, O. & ÁVILA, VIVIAN. 1993. Selección de cepas de *Azospirillum* en gramíneas promisorias bajo condiciones de casa de cristal. **Pastos y Forrajes**. 16:251
- PICCINI, D. & AZCON, R. 1987. Effect of phosphate solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular micorrhizal fungi on the utilization of Bayovar rock phosphate by alfalfa plants using a sand-vermiculite medium. **Plant and Soil**. 101:45
- POWELL, C.L. 1975. Potassium uptake by endotrophic mycorrhizas. In: Endomycorrhizas (F.E. Sanders, B. Mosse and P.B. Tinker, Eds.). Academic Press, London. p. 460
- RAM, G.; RAWAT, A.K. & JOSHI, B.S. 1988. Effect of *Rhizobium* and *Azotobacter* on *Cicer arietinum* in Chhattagarh of Madhya Pradesh. **Legume Research**. 11:150
- RAWAT, A.K. & SANORIA, C.L. 1976. Effect of *Rhizobium*, *Azotobacter* and *Bejerinckia* inoculation on *Cicer arietinum* var. type-1. **Curr. Sci.** 45:665
- REINHOLD, B.; HUREK, T.; FENDRIK, I.; POT, B.; GILLIS, M.; KERSTERS, K., THIELEMANS, D. & DELEY, J. 1987. *Azospirillum halopraeferans* sp. nov. a nitrogen fixing organism associated with roots of kallar grass (*Leptochloa fusca*). **Int. J. Syst. Bacterial**. 37 43
- ROLDOS, J., GONZÁLEZ, F., PÉREZ, MARLEN; GARCÍA, E.; HERNÁNDEZ, J.; GIL, A. & MENÉNDEZ, A. 1992. La aplicación de biopreparados a base de *Azospirillum* y su efecto sobre la productividad de la caña de azúcar. Programa y Resúmenes VIII Seminario Científico. I Taller Internacional sobre Biofertilización en los Trópicos. INCA. La Habana, Cuba. p. 36
- SAIF, S.R. 1986. Vesicular-arbuscular mycorrhizas in tropical forage species as influenced by season, soil texture, fertilizers, host species and ecotypes. **Angewandte Botank**. 60:125
- SÁNCHEZ DE PRAGER, MARINA. 1991. La simbiosis micorriza vesiculo-arbuscular (MVA) en soya *Glycine max* (L) Merrill. **Universidad Nacional de Colombia. BoieÚn Técnico**. 2:53
- SOUTO, S.M. & DOBEREINER, JOHANNA.. 1970. The effect of soil temperature on nitrogen fixation of *Stylosanthes gracilis* and *Pueraria javanica* **Pesq. agropec. bras**. 5:365
- SYLVESTER-BRADLEY, ROSEMARY; AYARZA, M.; MÉNDEZ, J.E. & MORIONES, R. 1983. Use of undisturbed soil cores for evaluation of *Rhizobium* strains and methods for inoculation of tropical forage legumes in Colombia oxisol. **Plant Soil**. 74:237
- TANG, M. 1986. Selección de cepas eficientes de *Rhizobium* en cuatro cultivares de *Stylosanthes guianensis*. **Pastos y Forrajes**. 9:29
- TANG, M. 1988. Study of *Rhizobium* inoculation in tropical forage legumes in Cuba. Dissertation for the Candidate Science Degree. Prague, Czechoslovakia. 116 p.
- TANG, M. & MENÉNDEZ, J. 1987. Respuesta a la inoculación de dos cultívalos de *Stylosanthes guianensis* en un suelo Ferralítico Rojo. **Pastos y Forrajes**. 10:116

- TANG, M., TAMAYO, ESTELA & CASTRO, RAFAELA M. 1983. Determinación de cepas de *Rhizobium* eficientes en 4 cvs. de *Leucaena leucocephala*. **Pastos y Forrajes**. 6 31
- TARRAND, J.J.; KREIG, N.R. & DOBEREINER, JOHANNA. 1978. A taxonomic study of the *Spirillum lipoferum* group with descriptions of a new genus *Azospirillum* gen. nov. and two species, *Azospirillum lipoferum* (Beijerinck) comb. nov. and *Azospirillum brasilense* sp. nov. **Can. J. Microbiol.** 24:967
- TRETO, EOLIA & ARBOLA, N. 1993. La nutrición de las plantas por la vía de la agricultura orgánica. Conferencias y mesas redondas. Primer Encuentro Nacional de Agricultura Orgánica. ISCAH, La Habana, Cuba. p. 23
- TRINICK, M.J. 1968, Nodulation of tropical legumes. I. Specificity in the rhizobium symbiosis of *Leucaena leucocephala*. **Expl. Agric.** 4:243
- VELAZCO, ANA. 1993. Biofertilización con *Azospirillum brasilense*. En: Curso de Agricultura Orgánica. ISCAH. La Habana, Cuba. p. 16
- WANI, S.P. 1990. Inoculation with associative nitrogen-fixing bacteria: role in cereal grain production improvement Review. **Indian J. Microbiol.** 30:363
- WHITNEY, A.S.; KANEHIRO, Y. & SHERMAN, G.D. 1967. Nitrogen relationships of three tropical forage legumes in pure stands and in grass mixtures. **Agron. J.** 59:47

Recibido el 6 de diciembre de 1993