

# PRODUCTIVIDAD DE *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich) y *Clitoria ternatea* L. CON BIOFERTILIZANTES

Zamora-Olivo, M.A.<sup>1</sup>, Aguirre-Medina, J.F.<sup>2</sup>, Cano-García, M.A.<sup>3</sup> Martínez-Tinajero, J.J.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fundación Produce Oaxaca. Yagul 101 Fraccionamiento San José la Noria, 68120 Oaxaca, Oax. <sup>2</sup>Universidad Autónoma de Chiapas. Facultad de Ciencias Agrícolas. Entronque carretera costera y Estación Huehuetán. CP 30660. Fax (964) 6270439. Huehuetán, Chiapas, México. <sup>3</sup>Centro de Investigaciones Regionales del Pacífico Sur-INIFAP. Melchor Ocampo No. 7, Santo Domingo Barrio Bajo, Villa de Etla, Oaxaca MX. C.P. 68200.

Autor responsable: [juanf56@prodigy.net.mx](mailto:juanf56@prodigy.net.mx)

## RESUMEN

Se evaluaron los microorganismos *Azospirillum brasilense* y *Rhizophagus intraradices* en un suelo cambisol de la región del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca, inoculados a *Brachiaria brizantha* y *Clitoria ternatea* con el fin de contar con alternativas de forrajes para la ganadería tropical. Se registró la efectividad de *R. intraradices* y *Azospirillum brasilense* con la promoción del desarrollo vegetal y el aumento en las cantidades de nitrógeno y fósforo en *Brachiaria brizantha* y *Clitoria ternatea* en condiciones de alta población de otros hongos micorrízicos.

**Palabras clave:** Pastoreo, proteína, ganadería tropical.

## INTRODUCCIÓN

En la nutrición de los bovinos se busca proporcionar alimento con calidad en cantidades suficientes y con el contenido nutricional requerido para su mantenimiento y producción. En las regiones tropicales la alimentación a base de gramíneas y pastoreo extensivo no permite cumplir estas expectativas, sobre todo en la temporada de estiaje, por escasez de forrajero, baja calidad proteica y alto contenido de fibra. Este panorama se presenta anualmente. Se han empleado diversas alternativas para mitigar los efectos ambientales de clima y suelo en la producción forrajera como, por ejemplo, cambiar la especie de pasto, hacer aplicaciones de fertilizantes químicos a base de nitrógeno al final de la época de lluvias, conservar los excedentes de forraje de la época de

lluvia, implementar riego, o bien, asociar o establecer leguminosas. La inclusión de leguminosas (Fabaceae) es considerada como la alternativa más económica ya que, una vez establecida, tiene la capacidad de lograr una producción sostenible, aumentar la cantidad de biomasa por unidad de área, y mejorar la calidad del forraje durante todo el año. El sistema radical de estas plantas se asocia con bacterias que atrapan el nitrógeno atmosférico (N) y se lo “proporcionan” a la planta como un “biofertilizante” pero, además, existen otros microorganismos, como los hongos benéficos, que también se asocian con las raíces de las plantas y tienen preferencia por transportar fósforo (P) disponible del suelo a la planta. De esta manera es posible nutrir las plantas forrajeras de dos nutrientes principales. La *Clitoria ternatea* L. (Fabaceae) ha sobresalido como planta forrajera por su adaptación a diferentes ambientes tropicales, su producción de forraje y capacidad para mejorar la productividad animal a menor costo (Villanueva-Avalos *et al.*, 2004), y es comparada en características nutrimentales con la alfalfa (*Medicago sativa*) (Bustamante-Guerrero *et al.*, 2002). Con base en lo anterior, se evaluó el desarrollo vegetativo y la respuesta al corte de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich) Stapf., y *Clitoria ternatea* L. inoculada con *Rhizophagus intraradices* (Schenck & Sm.) Walker & Schuessler y *Azospirillum brasilense*, y determinar el contenido de N y P en el tejido vegetal.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El sitio experimental fue el lote No. 8-BIS, conocido como Rancho “Tres Potrillos” de la Colonia Agrícola y Ganadera de “El Porvenir”, y pertenece al municipio de San Juan Cotzocón, Oaxaca, a 17°29'5.46" N, y 95°15'40.73" O y 100 m de altitud. El tipo climático dominante es Am (Wo<sup>ll</sup>) ig (García, 1973), que es cálido-húmedo con lluvias en verano y temperatura media anual de 23 a 25 °C. Los meses más húmedos son de junio a octubre, debido a las abundantes lluvias provenientes del Golfo de México, y se tiene un periodo de sequía de marzo a mayo. La precipitación promedio es de 2,500 milímetros anuales. El suelo pertenece al grupo de los Acrisoles, con textura franco-arcillosa, pH ácido (4.5 y 4.9), materia orgánica de 1.1%, 379 mgkg<sup>-1</sup> de Ca<sup>++</sup>, 175 mgkg<sup>-1</sup> de K<sup>+</sup>, 53 mgkg<sup>-1</sup> de Fe, 0.4 mgkg<sup>-1</sup> de Zn, 0.7 mgkg<sup>-1</sup> de Cu, 162 mgkg<sup>-1</sup> de Mg y 10.6 mgkg<sup>-1</sup> de Mn y 0.22 meq100 g<sup>-1</sup> de Na<sup>+</sup> y CIC 3.91 meq100 g<sup>-1</sup>.

El terreno se chapeó a diez cm de altura y después de siete días se rastreó dos veces, repitiéndolo a los 20 días y

diez días después se aplicó herbicida. La siembra del pasto *Brachiaria brizantha* y la *Clitoria ternatea* se realizó en surcos separados a 0.80 m, depositando la semilla en el fondo del surco, previa aplicación de los microorganismos mediante su adhesión a la semilla con carboxi-metil-celulosa. La parcela tuvo una dimensión de 4 m<sup>2</sup>, y entre parcelas hubo una separación de 1 m, tomando de ésta 0.80 m<sup>2</sup> como parcela útil evitando bordes. Los tratamientos probados fueron: Testigo sin biofertilizar en *Brachiaria*, 2) Testigo sin biofertilizar en *Clitoria*, 3) *Azospirillum brasilense* en *Brachiaria*, 4) *Azospirillum brasilense* en *Clitoria*, 5) *Rhizophagus intraradices* en *Brachiaria*, 6) *Rhizophagus intraradices* en *Clitoria*, 7) *Azospirillum brasilense* + *Rhizophagus intraradices* en *Brachiaria* y 8) *Azospirillum brasilense* + *Rhizophagus intraradices* en *Clitoria*. Los tratamientos fueron distribuidos en el terreno en un diseño de bloques al azar con cuatro repeticiones. Las variables de respuesta fueron la materia seca producida por cada tratamiento y especie vegetal, el porcentaje de colonización micorrízica en los tratamientos al inicio y al final del estudio, así como el contenido de nitrógeno y fósforo en el tejido vegetal de todos los tratamientos.

El peso seco de biomasa aérea y radical se registró al inicio y al final de la evaluación, y la parcela útil se cosechó para ser deshidratada en estufa de aire forzado durante 72 horas a 75-80 °C hasta peso constante. Se definieron algunos parámetros del crecimiento con los valores de materia seca aérea y radical, y cada uno de los componentes fisiológicos del rendimiento. El contenido de N (Kjeldhal) se estableció como porcentaje total, y el de fósforo (método por digestión húmeda) en el tejido vegetal de ambas especies vegetales. La determinación de la colonización micorrízica fue con muestras del sistema radical de cada planta, registrando presencia por la técnica de Phillips y Hayman (1970). Los resultados se analizaron mediante el paquete SAS versión 8.0 para Windows y con el graficador Sigma Plot, ver. 7.0.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La producción de materia seca al primer corte (30 dds), que consiste en la biomasa obtenida arriba de los 10 cm del suelo en ambas especies, se presenta en el Cuadro 1.

Los valores indicaron incremento en la producción de biomasa del pasto *B. brizantha* con los microorganismos solos o combinados, mientras que *C. ternatea* presentó un comportamiento diferencial debido al tratamiento. El desarrollo inicial del pasto fue ligeramente mayor con la aplicación de *R. intraradices* en comparación con *Azospirillum*

Cuadro 1. Peso seco del vástago de *Brachiaria brizantha* (Hochst. ex A. Rich) Stapf. y *Clitoria ternatea* L. y biofertilizadas con *G. intraradices* y *Azospirillum brasilense* en un suelo Acrisol de la región Mixe de Oaxaca, México.

Tiempo (Días)	Tratamiento	Vástago* (gm <sup>-2</sup> )
Primer corte 30 días después de la siembra	<i>Brachiaria brizantha</i>	61.60 b
	<i>B. brizantha</i> + <i>A. brasilense</i>	87.40 a
	<i>B. brizantha</i> + <i>Rhizophagus</i>	91.36 a
	<i>B. brizantha</i> + <i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i>	69.37 ab
	<i>Clitoria ternatea</i>	52.36 c
	<i>C. ternatea</i> + <i>A. brasilense</i>	38.04 c
	<i>C. ternatea</i> + <i>Rhizophagus</i>	32.76 c
	<i>C. ternatea</i> + <i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i>	52.95 c
		CV=21 %
Segundo corte 15 días después del primer corte y 45 dds	<i>Brachiaria brizantha</i>	26.7 ab
	<i>B. brizantha</i> + <i>A. brasilense</i>	37.78 a
	<i>B. brizantha</i> + <i>Rhizophagus</i>	40.38 a
	<i>B. brizantha</i> + <i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i>	43.72 a
	<i>Clitoria ternatea</i>	10.33 c
	<i>C. ternatea</i> + <i>A. brasilense</i>	9.56 c
	<i>C. ternatea</i> + <i>Rhizophagus</i>	17.15 bc
	<i>C. ternatea</i> + <i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i>	7.88 c
		CV=26 %
Tercer corte 15 días después del segundo corte y 60 dds	<i>Brachiaria brizantha</i>	19.39 a
	<i>B. brizantha</i> + <i>A. brasilense</i>	18.46 a
	<i>B. brizantha</i> + <i>Rhizophagus</i>	19.77 a
	<i>B. brizantha</i> + <i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i>	17.97 a
	<i>Clitoria ternatea</i>	7.66 b
	<i>C. ternatea</i> + <i>A. brasilense</i>	5.86 b
	<i>C. ternatea</i> + <i>Rhizophagus</i>	6.99 b
	<i>C. ternatea</i> + <i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i>	6.96 b
		CV=9.2%
Cuarto corte 15 días después del tercer corte y 75 dds	<i>Brachiaria brizantha</i>	21.60 a
	<i>B. brizantha</i> + <i>A. brasilense</i>	21.39 a
	<i>B. brizantha</i> + <i>Rhizophagus</i>	25.99 a
	<i>B. brizantha</i> + <i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i>	19.00 ab
	<i>Clitoria ternatea</i>	14.57 b
	<i>C. ternatea</i> + <i>A. brasilense</i>	23.36 a
	<i>C. ternatea</i> + <i>Rhizophagus</i>	8.90 c
	<i>C. ternatea</i> + <i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i>	12.82 b
		CV=13 %
Quinto corte 15 días después del cuarto corte y 90 dds	<i>Brachiaria brizantha</i>	5.9 b
	<i>B. brizantha</i> + <i>A. brasilense</i>	13.2 a
	<i>B. brizantha</i> + <i>Rhizophagus</i>	30.33 a
	<i>B. brizantha</i> + <i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i>	9.76 a
	<i>Clitoria ternatea</i>	10.0 a
	<i>C. ternatea</i> + <i>A. brasilense</i>	5.0 b
	<i>C. ternatea</i> + <i>Rhizophagus</i>	6.0 b
	<i>C. ternatea</i> + <i>Rhizophagus</i> + <i>Azospirillum</i>	7.0 b
		CV=15 %

CV: Coeficiente de variación (%). \*Valores con la misma letra dentro de cada columna y edad de las plantas son iguales de acuerdo con la prueba de Tukey con una  $p \leq 0.05$ . \*El corte incluye hoja+tallos a 10 cm arriba del suelo.



Figura 1. Distribución de parcelas experimentales de dos especies forrajeras.

*brasile*, o cuando se aplicaron los dos microorganismos juntos. En este caso se encontraron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos a favor de los biofertilizantes. La inducción del desarrollo vegetal del *Brachiaria* biofertilizado con *A. brasilense* ha sido documentada por Riess y Savito (1985), y la mayor asignación de materia seca cuando se biofertiliza con *R. intraradices* ha sido reportada en otros cultivos, como frijol (*Phaseolus vulgaris*) por Aguirre-Medina y Kohashi (2002), y maíz (*Zea mays*) por Irizar *et al.* (2003).

La producción inicial de biomasa de *Clitoria ternatea* fue superior con el tratamiento testigo y la simbiosis doble en comparación con los otros tratamientos. Es probable que al inicio de su desarrollo la planta asigne mayor cantidad de productos de la fotosíntesis al sistema radical para lograr el establecimiento de la simbiosis con los microorganismos. Este hecho no se presentó con el pasto. La diferencia encontrada en este primer muestreo se atribuye a una mayor capacidad de absorción de nutrientes y agua, producto del sistema radical fibroso de las gramíneas (Poaceae), en comparación con las Fabaceas que poseen un sistema radical menos extenso y más profundo.

En cuanto a la biomasa acumulada registrada al segundo corte, el pasto logró mayor producción de materia seca en comparación con *C. ternatea*, considerado hasta cierto punto normal, ya que el pasto presenta crecimiento intersticial como mecanismo de su adaptación al pastoreo; en cambio, en la Fabacea, al remover los puntos de crecimiento apical, requiere mayor tiempo para generar nuevos rebrotes. Entre tratamientos, los biofertilizantes

aplicados en *B. brizantha*, superaron al testigo y fueron estadísticamente superiores, mientras que en *C. ternatea* la producción más alta se logró con el tratamiento biofertilizado con *R. intraradices*. Este resultado evidencia la importancia de los microorganismos en el sistema radical de las plantas, que seguramente favorecen la acumulación de reservas (carbohidratos) para ser utilizadas después del corte y favorecer el rebrote. Es importante considerar que el rebrote de las especies forrajeras se produce mediante el transporte de carbohidratos no estructurales de la base del tallo y raíces a los meristemos aéreos remanentes, después de realizada la defoliación (Hernández y Ramírez, 1986); los cortes frecuentes o pastoreo severo disminuyen considerablemente la disponibilidad de carbohidratos y ocasionan baja tasa de rebrote.



Figura 2. Sistema radical de *Clitoria ternatea* con presencia de nódulos.



Los resultados al tercer corte con diferencia de 15 días no registraron diferencias estadísticas entre tratamientos ni especies forrajeras. Es probable que ambas plantas no lograran acumular carbohidratos en su sistema radical para favorecer el rebrote. Al disminuir el área foliar, como consecuencia de la reducción en la oferta de carbohidratos, la mayoría de los compuestos son requeridos por la raíz (Roveda y Polo, 2007). Estas consideraciones han sido consignadas por diversos autores en gramíneas (Poaceae) (Hernández y Ramírez, 1986) y leguminosas (Fabaceae) (Carambola, 1977). Es importante citar que existió una ligera tendencia de mayor producción vegetal con los tratamientos donde se biofertilizó con *R. intraradices*. Las bondades de la inoculación de este hongo micorrízico en el sistema radical y su efecto en el desarrollo vegetal han sido documentados (Smith *et al.*, 2003; Aguirre-Medina, 2006).

La importante respuesta del testigo en la acumulación de biomasa en ambas especies puede estar relacionada con la menor demanda de fotosintatos por parte de los microorganismos al sistema radical y mayor envío de los mismos hacia el vástago, aun cuando en el sitio de evaluación se encontró alto contenido de esporas con valores superiores a 900 esporas  $g^{-1}$  de suelo. La alta población micorrízica no induce necesariamente alta productividad de biomasa. Hayman (1982) sugiere variaciones importantes en la efectividad simbiótica de los hongos micorrízicos. En diversos cultivos se tienen respuestas diferentes a los aislamientos geográficos cuando los hongos micorrízicos se inoculan en una misma especie. Se presenta respuesta diferencial entre las micorrizas y la planta huésped (Roveda y Polo, 2007), y la mejor micorriza para estimular el crecimiento no es necesariamente la más infectiva (Hayman, 1982), como sucedió en nuestro caso, donde la población nativa no necesariamente fue capaz de inducir las mayores producciones de materia seca en ambas especies forrajeras. El establecimiento de una simbiosis funcional requiere de la expresión concertada de genes de ambos organismos (Girard *et al.*, 2002) (Figura 3).

En el corte número cuatro realizado en ambas especies, la producción de materia seca fue semejante. A esta fecha, se presentó cierto nivel de estrés hídrico, producto de la disminución de la precipitación en la región y, seguramente, el nivel de disponibilidad de agua disminuyó para las gramíneas, que poseen un sistema radical más superficial en comparación al de *Clitoria ternatea*, y bajo esta condición expresaron su mayor aportación a la producción de forraje. Diversos resultados indican la relación de la simbiosis planta-microorganismo con la tolerancia a la sequía, mediante el desarrollo del micelio para explorar mayor volumen de suelo y transportar agua a la planta huésped (Augé, 1994). El corte número cinco refleja la disminución de la producción de biomasa de ambas plantas cuando se cortan a intervalos frecuentes, con excepción del *Brachiaria* con el tratamiento inoculado con *R. intraradices*. El efecto anterior puede asociarse al mejor status nutrimental de las plantas micorrizadas en comparación con los

otros tratamientos (Roveda y Polo, 2007), sobre todo con micorriza, que ha demostrado su eficiencia en el transporte de nutrientes a la planta, como sugieren los resultados encontrados en nuestro caso.

La remoción de la parte superior del *Brachiaria* no afectó la capacidad de rebrote en comparación a cuando se removieron los puntos de crecimiento en *Clitoria ternatea*. En condiciones de pastoreo este procedimiento debe atenderse de forma diferencial, si se decide establecer ambas especies. El centro de mayor actividad fisiológica de los vegetales se encuentra en los meristemas, donde no sólo se producen nuevas células, sino también hormonas que regulan el desarrollo de las plantas. Los efectos favorables y adversos del ambiente son percibidos directamente por las zonas de crecimiento de las plantas.

### Porcentaje de colonización micorrízica

La colonización del sistema radical de ambas especies fue muy semejante al final de la evaluación (Figura 4 A), lo cual confirmó la alta cantidad de esporas encontradas en el mismo



Figura 3. Corte de plantas en forma extractiva para determinación de biomasa.

suelo, superior a  $900 \text{ g}^{-1}$  de suelo, sugiriendo la adaptación de este microorganismo a la región. Aun cuando se trata de una especie introducida, el alto porcentaje de colonización en *Brachiaria* sugiere la capacidad de colonización de la cepa naturalizada.

### Contenido de nitrógeno y fósforo en el tejido vegetal

Los tratamientos que presentaron mayor contenido de N en el tejido vegetal de ambas especies fueron aquellos realizados con el hongo micorrízico y donde se incluyeron *R. intraradices* y *Azospirillum brasilense* (Figura 4 B). Muchos estudios han demostrado que las plantas micorrizadas absorben nitrógeno del suelo más eficientemente que las no colonizadas (Ngwene *et al.*, 2010). En relación con el fósforo, también se presentó incremento en los tratamientos de ambas especies, donde se incluyó *R. intraradices*, sola o en combinación con *A. brasilense* (Figura 4 C). Este efecto en la utilización del fósforo es especialmente importante, porque puede reducir la necesidad de aplicación de fertilizante fosforado.

Las altas concentraciones de fósforo en maíces micorrizados han sido como consecuencia de la nutrición atribuida a la habilidad de las hifas para transportar los nutrientes a la planta huésped, con énfasis en suelos de baja fertilidad. En forma general se ha demostrado que las plantas micorrizadas favorecen la absorción y el transporte, además del fósforo, de Zn, Ca, S, Cu y Mg, y sus efectos son más notorios en suelos de baja fertilidad (Gerdemann, 1968).

## CONCLUSIONES

Los resultados confirman la efectividad de *R. intraradices* y *Azospirillum brasilense* inoculados para

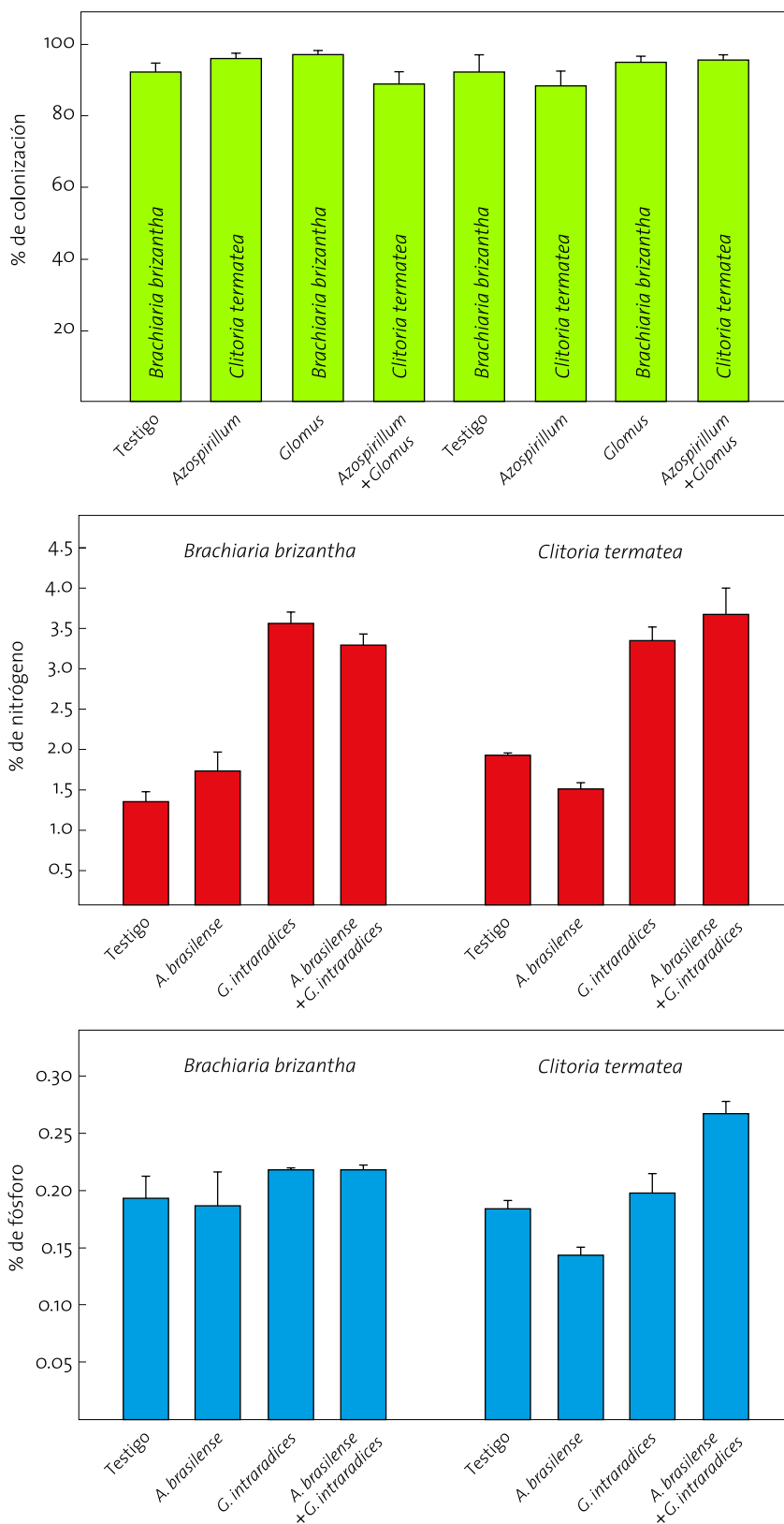


Figura 4. A: Colonización micorrízica, B: Contenido de nitrógeno; C: Contenido de fósforo de *Brachiaria brizantha* y *Clitoria ternatea* inoculadas con *Azospirillum brasilense* y *Rhizophagus intraradices* en suelo cambisol,  $\pm$  error estándar con  $n=180$ ,  $n=4$  y  $n=4$  repeticiones, respectivamente en la biomasa de *Brachiaria brizantha* y *Clitoria ternatea* inoculadas con *Azospirillum brasilense* y *Rhizophagus intraradices* en suelo cambisol de la región del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca.

promover el desarrollo vegetal y aumentar las cantidades de nitrógeno y fósforo en *Brachiaria brizantha* y *Clitoria ternatea* en condiciones de alta población de otros hongos micorrízicos. Estos resultados son importantes para la alimentación animal (incremento de materia seca en potreros) y la calidad de las pasturas que se proporcionan a los animales, además de considerar que puede sugerir disminución en las aplicaciones de fertilizantes químicos con impactos económicos y ambientales. Las plantas inoculadas acumularon mayor concentración de N y P en el tejido vegetal en comparación con los tratamientos no inoculados, registrando la mayor concentración de ambos elementos con *R. intraradices*.

## LITERATURA CITADA

- Aguirre-Medina J.F. 1985. Componentes morfológicos y fisiológicos del rendimiento en frijol *Phaseolus vulgaris* L. Al inocularse con la micorriza V-A y dinámica de las estructuras del hongo. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México.
- Aguirre-Medina J.F., Kohashi, S.J. 2002. Componentes Morfológicos y Fisiológicos del Rendimiento, Dinámica de la Colonización Micorrízica y contenido de Fósforo en Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Agricultura Técnica en México. 28(1): 23-33.
- Aguirre-Medina J.F. 2006. Biofertilizantes microbianos: Experiencias agronómicas del programa nacional del INIFAP en México. Libro técnico No. 2. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Rosario Izapa. Tuxtla Chico, Chiapas, México. 201 p.
- Augé R.M., Duan X., Ebel R.C., Stodola A.J. 1994. Nonhydraulic signalling of soil drying in mycorrhizal maize. *Planta*. 193: 74-82.
- Bustamante-Guerrero J.J., Villanueva Avalos J.F., Bonilla-Cárdenas J.A. y Rubio-Ceja J.V. 2002. Utilización de heno de *Clitoria ternatea* L. en la alimentación de vacas suizo pardo en lactación. *Téc. Pec. Méx.* 42(3): 477-487.
- Carambola M. 1977. Producción y manejo de pasturas. Montevideo, Uruguay. Ed. Hemisferio Sur. 464 p.
- Faber B.A., Zasoski R.J., Munns D.W., Schackel K. 1991. A method for measuring hyphal nutrient and water uptake in mycorrhizal plants. *Canadian Journal of Botany*. 69: 87-94.
- García E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). Instituto de Geografía. Universidad Autónoma de México. 2ª Edición corregida y aumentada. México D. F. 246 p.
- Gerdeman J.W. 1968. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Ann. Rev. of phytopathol.* 6: 397-418.
- Girard L., J Granados, Díaz M., Gómez L., N., Romero D. 2002. La expresión de los genes *fix* en *R. Etli* CFN42 está bajo el control de una novedosa cascada de regulación *fixL-fixK*. In: XXI Reunión Latinoamericana de Rhizobiología y VI Congreso Nacional de la Fijación de Nitrógeno. 21-24 de Octubre. Cocoyoc, Morelos, México. p. 12-13.
- Hayman D.S. 1982. Practical aspects of vesicular-arbuscular mycorrhiza, In: *Advances in Agricultural microbiology*. N. S. Subba Rao (Eds). INH. New Delhi. p. 325-373.
- Hernández G.A., Ramírez G.A. 1986. Determinación de la calidad de 27 asociaciones de gramíneas y leguminosas de clima templado en su primer año de estudio. Tesis de Licenciatura. Chapingo, Estado de México, México. Universidad Autónoma de Chapingo. 89 p.
- Irizar-Garza M.B.G., Vargas-Vázquez P., Garza-García D., Tut y Couoh C., Rojas-Martínez I., Trujillo-Campos A., García-Silva R., Aguirre-Montoya D., Martínez-González J.C., Alvarado-Mendoza S., Grajeda-Cabrera O., Valero-Garza J., Aguirre-Medina. J.F. 2003. Respuesta de cultivos agrícolas a los biofertilizantes en la región central de México. *Agricultura Técnica en México*. 29(2): 213-225.
- Ngwene B., George E., Claussen W., Neumann E. 2010 Phosphorus uptake by cowpea plants from sparingly available or soluble sources as affected by N-form and arbuscular-mycorrhiza-fungal inoculation. *J Plant Nutr Soil Sc* 173:353-359.
- Phillips J.M., Hayman D.J. 1970. Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55: 158-161.
- Riess S., Sanvito A. 1985. Investigations on vesicular arbuscular mycorrhizae in different conditions of coffee cultivations in Mexico. *Micol. Ital.* 14: 57-62.
- Roveda G., Polo C. 2007. Mecanismos de adaptación de maíz asociado a *Glomus* spp. en suelos con bajo fósforo disponible. *Agronomía. Colombiana* 25(2): 349-356.
- Smith S.E., Smith F.A., Jakobsen I. 2003. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plant irrespective of growth responses. *Plant physiol.* 133, 16-20.
- Villanueva Avalos J.F., Bonilla-Cardenas J.A., Rubio-Ceja J.V., Bustamante-Guerrero, J.J. 2004. Agrotecnia y utilización de *Clitoria ternatea* en sistemas de producción de carne y leche. *Téc. Pec. Méx.* 42(1): 79-96.

